

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKULTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KRONİK PANKREATİT MODELİNDE
GENİSTEİNİN KORUYUCU ROLÜ**

**DR. SERKAN GÜNAYDIN
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. İ. HALİL BAHÇECİOĞLU**

**ELAZIĞ
2007**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ömer Lütfi ERHAN

Dekan

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. İ. Halil BAHÇECİOĞLU

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden

Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İ. Halil BAHÇECİOĞLU

Danışman

Uzmanlık Jüri Üyeleri

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) yönetim birimi başkanlığı tarafından 1388 numaralı proje ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca yakın ilgi ve öğretileri ile yetişmemde büyük emeği bulunan İç Hastalıkları AD. Başkanı Prof. Dr. İbrahim H. BAHÇECİOĞLU başta olmak üzere tüm hocalarıma, rotasyonlarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım öğretim üyelerine, tezimin hazırlanması ve yazımı sırasında değerli yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mehmet YALNIZ'a, asistanlık sürem boyunca bir aile gibi yaşadığımız İç Hastalıkları AD araştırma görevlisi arkadaşlarıma, bana her zaman destek olan eşim Ersin, kızım İrem ve tüm aileme teşekkür ederim..

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Teşekkür	IV
Tablolar Listesi	VIII
Şekiller Listesi	IX
Kısaltmalar	X
1.Özet	1
2.Abstract	2
3.Giriş	4
3.1.Kronik Pankreatit	6
3.1.1.Kronik Pankreatit Oluşumu	6
3.1.2. Kronik Pankreatit Epidemiyolojisi	8
3.1.3. Kronik Pankreatit Etiyolojisi	8
3.1.3.1.Toksik-Metabolik	9
3.1.3.2.İdyopatik Kronik Pankreatit	10
3.1.3.3.Genetik Kronik Pankreatit	11
3.1.3.4.Otoimmün Kronik Pankreatit	12
3.1.3.5.Tekrarlayan ve Şiddetli Akut Pankreatit	12
3.1.3.6.Kronik Obstruktif Pankreatit	12
3.1.4.Klinik Belirtiler	13
3.1.5.Laboratuar Bulguları ve Tanı	14
3.1.6.Doğal Seyir Ve Prognoz	15
3.1.7. Kronik Pankreatit Patofizyolojisi	16

	Sayfa No
3.1.7.1.Pankreatik Stellat Hücreler	17
3.1.7.2.Sitokinler ve Kronik Pankreatit	18
3.1.7.3.Oksidatif Stres ve Kronik Pankreatit	19
3.1.7.4.Alkol ve Kronik Pankreatit	20
3.1.7.5.Matriks Metalloproteinazlar ve Kronik Pankreatit	20
3.2.Deneysel Kronik Pankreatit Modelleri	21
3.2.1.DBTC İle İndüklenen Kronik Pankreatit	21
3.2.2.Cerulein İle İndüklenen Kronik Pankreatit	21
3.2.3.Alkol İle İndüklenen Kronik Pankreatit	21
3.2.4.TNBS İle İndüklenen Kronik Pankreatit	21
3.2.5.Spontan Kronik Pankreatit	22
3.3.Tedavi	22
3.3.1.Nedenin Ortadan Kaldırılması	22
3.3.2.Ağrının Tedavisi	22
3.3.3.Ekzokrin Pankreas Yetmezliğinin Tedavisi	23
3.3.4.Endokrin Pankreas Yetmezliğinin Tedavisi	23
3.3.5.Deneysel Tedavi Yöntemleri	23
3.3.5.1.Antioksidanlar	24
3.3.5.2. PPAR-γ Ligandları	24
3.3.5.3.Camostat Mesilate	24
3.3.5.4.Lovastatin	25
3.3.5.5.Diğerleri	25

	Sayfa No
3.4.Genistein	25
4.Gereç ve Yöntem	26
4.1.Deney Hayvanları	26
4.2. Deney Hayvanlarının Beslenmesi	26
4.3.Grupların Dağılımı ve Çalışmanın Dizaynı	26
4.4.Genisteinin Hazırlanması, Dozu ve Uygulanması	27
4.5. DBTC'nin Hazırlanması, Dozu ve Uygulanması	27
4.6.Çalışmanın Sonlandırılması ve Örneklerin Toplanması	27
4.7.Biyokimyasal Analizlerin Yapılması	28
4.8.Histopatolojik Değerlendirme	28
4.9.İstatistiksel Analiz	29
5.Bulgular	30
5.1.Biyokimyasal Bulgular	30
5.2.Serum TNF-α ve TGF-β Düzeyleri	32
5.3.İdrar Hidroksiprolin Düzeyleri	34
5.4.Pankreas Doku Malondialdehid (MDA) Düzeyleri	34
5.5.Histopatolojik Bulgular	36
6.Tartışma	39
7.Kaynaklar	46
8.Özgeçmiş	66

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1:TIGAR-O etyolojik sınıflama sistemi

9

Tablo 2:Kontrol, plasebo, GK, GT gruplarında serum biyokimya verileri

30

Tablo 3.Serum TNF- α ve TGF- β değerleri

32

Tablo 4.Pankreas doku MDA ve idrar hidroksiprolin değerleri

35

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Gruplar arasında serum amilaz değerlerinin karşılaştırılması	31
Şekil 2. Gruplar arasında serum lipaz değerlerinin karşılaştırılması	31
Şekil 3. Gruplar arasında serum TNF- α değerlerinin karşılaştırılması	33
Şekil 4. Gruplar arasında serum TGF- β değerlerinin karşılaştırılması	33
Şekil 5. Gruplar arasında idrar hidrokisprolin değerlerinin karşılaştırılması	34
Şekil 6. Gruplar arasında pankreas doku MDA değerlerinin karşılaştırılması	35
Şekil 7. Hematoksilen & Eozin, x200 bŸyŸtme	37
Şekil 8. Masson Trikrom, x200 bŸyŸtme	38

KISALTMALAR

KP	:Kronik pankreatit
PF	:Pankreas fibrozisi
PSH	:Pankreatik stellat hücre
ESM	:Ekstra sellüler matriks
TGF-β	:Transforme edici büyüme faktörü beta
TNF-α	:Tümör nekroze edici faktör alfa
PDGF	:Platelet kaynaklı büyüme faktörü
CTGF	:Konnektif doku büyüme faktörü
LPO	:Lipid peroksidasyonu
MDA	:Malondialdehid
CFTR	:Kistik fibroz transmembran kondüktans regulator
SPINK1	:Serin proteaz inhibitör kazal tip 1
PSTI	:Pankreatik sekretör tripsin inhibitör
DBTC	:Dibutyltin dichloride
α-SMA	:Alfa düz kas aktin
SAPE	:Sentinel Acute Pancreatitis Event
EUS	:Endoskopik ultrasonografi
ERCP	:Endoskopik retrograd kolanjiopankreatikografi
MMP	:Matriks metalloproteinaz
TIMP	:Doku metalloproteinaz inhibitörü
CCK	:Kolesistokinin
NF-κB	:Nükleer faktör kappa B
PPAR-γ	:Peroksizom proliferatör aktivatör reseptör gama

1.ÖZET

Bu çalışmada, antioksidan ve anti-inflamatuvar etkileri olan genisteinin deneysel kronik pankreatit (KP) modelinde koruyucu rolünü araştırdık.

Ağırlıkları 121 ile 256 gram arasında değişen, 60 adet sekiz haftalık erkek Sprague-Dawley cinsi rat randomize olarak dört eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubu dışındaki ratlara çalışmanın başında dibutyltin dichloride (DBTC) tek doz 7 mg/kg, kuyruk veninden intravenöz (IV) olarak yapıldı. Plasebo grubuna deney süresince (4 hafta) 0.5 ml serum fizyolojik subkutan (SC) günde bir kez uygulandı. Genistein koruyucu (GK) gruba çalışma başlamadan bir gün önce ve tüm deney süresince (4 hafta), genistein tedavi (GT) grubuna dördüncü haftadan sonra 2 hafta süre ile 0.2 mg/kg/gün dozunda genistein SC olarak uygulandı . İlk üç gruptaki ratlar 4 hafta sonra, GT grubundaki ratlar 6 hafta sonra dekapite edildi. Kan örnekleri ve pankreas dokuları alındı. Dekapitasyondan bir gün önce idrar örnekleri toplandı. Serumda glukoz, amilaz, lipaz, TNF- α ve TGF- β , pankreas dokusunda malondialdehid (MDA) ve idrarda hidroksiprolin (OH-prolin) düzeyleri ölçüldü. Histopatolojik olarak pankreasda fibrozis, inflamasyon ve nekroz değerlendirildi.

GT grubunda TGF- β , pankreas doku MDA, hidroksiprolin, lipaz değerlerini (p hepsinde <0.05), GK grupta ise lipaz (p<0.05) değerini plasebo grubuna göre belirgin olarak azalmış bulduk. Genistein, fibrozisi her iki grupta da plasebo grubuna göre belirgin şekilde azalttı (p<0.05). Hiç bir grupta nekroz saptanmadı. Lökosit infiltrasyonu minimaldi.

Genistein deneysel KP gelişimini hem direk antioksidan etkiyle, hem de oksidatif hasara ikincil TGF- β salınımını azaltarak belirgin olarak önlemekte, histopatolojik ve biyokimyasal düzelme ile pankreatik fibrozisi azaltmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kronik pankreatit, oksidatif stres, pankreatik fibrozis, genistein

2.ABSTRACT

Preventive Role Of Genistein In Experimental Chronic Pancreatitis Model

In the present study, we evaluated preventive role of genistein, a phytoestrogen with antiinflammatory and antioxidant properties, in experimental chronic pancreatitis (CP) model.

Eight weeks old 60 Sprague-Dawley rats weighing between 121 and 256 grams were randomly divided into four equal groups. At the beginning of the study, dibutyltin dichloride (DBTC) was injected to the tail vein of the rats in the second, third, and fourth groups. During the whole experiment 0.5 ml/day 0.9 NaCl was injected subcutaneously to the group placebo. 0.2 mg/kg/day genistein was injected subcutaneously to group 3 (genistein prevention: GP) starting one day before study and during the whole experiment. After the fourth weeks, genistein at 0.2 mg/kg/day was injected subcutaneously to the fourth group (genistein treatment: GT) during two weeks. Rats in the first, second, and third group were killed after four weeks. Rats in the fourth group were killed after sixth weeks. Blood samples were collected and tissue samples were prepared. Urine samples were collected one day before. Glucose, amylase, lipase, TNF- α , TGF- β , pancreas MDA and urine OH-proline levels were measured. Fibrosis, inflammation and necrosis in the pancreas examined histopathologically.

TGF- β , tissue MDA, Hydroxyproline and lipase ($p < 0.005$ in all) levels were significantly lower in GT group compared to the placebo group. In GP group, lipase ($p < 0.05$) levels were significantly lower compared to the placebo group. Histopathologically, fibrosis in GP and GT groups were significantly lower than in the placebo group. There was no necrosis and a minimal leukocyte infiltration in the DBTC injected groups.

Genistein prevents experimental CP via either direct antioxidant action or decreasing the levels of TGF- β related to the oxidative injury and attenuates the existing pancreatic fibrosis by improving the biochemical and histopathological abnormalities.

Key words: Chronic pancreatitis, oxidative stress, pancreatic fibrosis, genistein

3.GİRİŞ

Kronik pankreatit (KP) ekzokrin ve endokrin pankreas dokusunun geri dönüşsüz yıkımı, ilerleyici fibrozisi ve fonksiyon kaybı ile giden geri dönüşsüz morfolojik değişiklikler ile karakterize bir hastalıktır (1). KP'de ağrı, sindirim ve emilim bozuklukları önde gelen belirti ve komplikasyonlardır (2). Endokrin pankreas genellikle geç dönemde etkilenmektedir ve azalmış insülin salınımı sonucu diabetes mellitus (DM) ve komplikasyonları gelişmektedir. Bunların yanında KP'in diğer önemli bir komplikasyonu ise pankreatik kansere neden olmasıdır (3).

Fibrozis KP'de en önemli morfolojik bulgudur. KP adacık hücreleri ve asiner hücrelerin harabiyeti, pankreatik stellat hücre (PSH) aktivasyonu ve bağ dokusunun bu hücrelerin yerini doldurması ile karakterizedir. Artmış ekstrasellüler matriks (ESM) depolanmasının sonucunda fibrozis gelişir (4,5). PSH'in aktivasyonu sitokinlerin ve ESM'in içeriklerini düzenler. Bu süreçte en önemli sitokin transforming growth faktör betadır (6-8). PSH insan pankreasında interlobüler ve interasiner bölgelerde lokalizedir ve miyofibroblast özellikleri gösterir. PSH'ler PDGF, TGF- β , IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi çeşitli sitokinler tarafından stimüle edilir. PSH ESM proteinlerinin en önemli kaynağıdır (9-11).

TGF- β 1 bir pankreatik fibrozis aracısı olarak oldukça dikkat çekmiştir. TGF- β 'nın ESM turnover ve sentezinde önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (12,13). Cerulein ile indüklenen pankreatitli ratlarda TGF- β 1 ekspresyonundaki değişiklikler ile kollajen gen ekspresyonundaki değişikliklerin paralel seyrettiği gözlenmiştir (14). Normal pankreas dokusunda az miktarda TGF- β 1 eksprese edilirken, KP'li insanların fibrotik pankreas alanlarında TGF- β 1 ekspresyonunun aşırı derecede arttığı bulunmuştur (15).

Pankreatik hastalıkların nedeni olarak karaciğer karma işlevli oksidazların (MFO) aşırı aktivitesi de öne sürülmüştür. Bu enzimler kanda taşınan zararlı maddelerin

detoksifikasyonuna yardımcı olmakla birlikte, ortaya çıkan yan ürünler oksidatif hasara yol açabilirler. Sistemik dolaşım veya safra yollarından pankreatik kanala reflü yolu ile pankreasın maruz kaldığı bu oksidatif stres sonucu inflamasyon ve doku hasarı oluşur (16). Aşırı yağlı beslenme gibi durumlar veya alkol gibi indükleyicilerin alımında MFO'ların aktivitesindeki artış ile oksidatif stres daha da ağırlaşır. Ratlarda kronik alkol alımı geliştirildiğinde, safrada, lipid peroksidasyon (LPO) ürünü olan malondialdehid (MDA) ve glutatyon seviyelerinin arttığı gözlenmiştir (17). KP'li hastaların safralarında da LPO ürünleri, bakır oksidazlar ve serbest radikal konsantrasyonlarında artış saptanmıştır (18). Okside ürünler peroksidasyon yolu ile hücrelerin lipid membranlarında hasara yol açar. Bunun sonucunda lizozomlar ve zimojen granüllerin fragilitesi artar. Bunu otosindirim, mast hücrelerinde degranülasyon, platelet agregasyonu ve son olarak inflamatuvar hasar izler (19). Bazı çalışmalarda antioksidan tedavinin KP ağrısını iyileştirebildiği (20) ve KP rat modellerinde yüksek doz antioksidan kullanılmasının fibrozisi önlediği gösterilmiştir (21).

KP'de tedavi iki büyük probleme yöneliktir; ağrı ve malabsorpsiyon. Ağrı tedavisinde sıklıkla narkotikler gerekmektedir. Malabsorpsiyon tedavisi için ise pankreatik enzim replasmanı uygulanmaktadır. Kronik pankreatit oluşumunun temelinde yatan pankreatik fibrozise yönelik kesin bir tedavi ise henüz bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, antiinflamatuvar, antioksidan ve antifibrotik etkileri olan genisteinin deneysel olarak oluşturulan kronik pankreatit modelinde koruyucu rolünü araştırmayı amaçladık.

3.1.Kronik Pankreatit

KP ekzokrin ve endokrin pankreas dokusunun geri dönüşsüz yıkımı, ilerleyici fibrozisi ve fonksiyon kaybı ile giden, geri dönüşsüz morfolojik değişiklikler ile karakterize bir hastalıktır (1). KP'in değişken ve çok çeşitli komplikasyonları vardır. Ağrı en önde gelen belirti ve komplikasyondur. Ağrının patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Diğer önemli bir klinik bulgu sindirim ve emilim bozukluklarıdır. Pankreatik enzimlerin salınımında %10'luk bir azalma bile sindirim ve emilim bozuklukları ile seyreder (2). Endokrin pankreas, KP'e neden olan etkenlere karşı daha dirençlidir ve genellikle geç dönemde etkilenmektedir. Azalmış insülin salınımı sonucu DM ve komplikasyonları gelişmektedir. Bunların yanında KP'in diğer önemli bir komplikasyonu ise pankreatik kansere neden olmasıdır. İki yılı aşan KP olgularında pankreas kanseri riski artmıştır. KP tanısından 20 yıl sonra pankreatik karsinoma için kümülativ risk % 4'dür (3).

3.1.1. Kronik Pankreatit Oluşumu

KP gelişiminde etkili patogenetik mekanizmalar, kanal tıkanması (litojenik pankreatit, tıkaçıcı pankreatit), toksik-metabolik nedenler ve nekroz-fibrozis olarak tanımlanabilir. Kanal tıkanma hipotezinde pankreatik kanallarda oluşan protein çöküntüleri, tıkaçlar ve taşlar hastalığın temel nedeni olarak kabul edilir. Özellikle kronik alkol alımı olan olgularda geçerli olan bu hipotezde, protein açısından zengin, bikarbonat ve volüm açısından fakir bir pankreas salgısının kanallarda protein çöküntüsüne neden olduğu, zamanla bu çöküntülerin kalsifikasyona uğrayarak küçük kanalların tıkanmasına ve hasarına yolaçtığı, ardından fibrozis ve skarlaşmanın parankim hasarı oluşturduğu öngörülmektedir. Pankreas kanallarında taş oluşumu, alkolik kronik pankreatit, tropikal pankreatit, herediter pankreatit ve idiyopatik pankreatit olgularında görülür. Bu olgularda, pankreatik sıvıda kalsiyum karbonatın çöküntü oluşturmasını engelleyici bir faktör olan

lithostathine eksikliği olduğu bildirilmiştir. Pankreas kanallarının tıkanması sonucu, kanalda basınç artışı olur ve gelişen iskemi, inflamasyon, nekroz ve sonuçta asiner hücre zedelenmesini doğurur. Kronik pankreatit etyolojisinde tartışılan ikinci bir hipotez, nekrozis ve fibrozis teorisiidir. Bu hipotezde tekrarlayan akut pankreatit ataklarının hücre nekrozuna yolaçtığı ve iyileşmeler sırasında nekrozun yerini fibrozisin alması ile kronik değişikliklerin geliştiği öngörülür. Kronik inflamasyon sırasında salınan TGF- β , epidermal büyüme faktörü, trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi hücre dışı dokuda matriks sentezini uyaran ve kollajen sentezini arttıran mediatörlerin önemli rolü vardır. Toksik-metabolik hipotez, özellikle alkol ve metabolitleri için geçerli olup, pankreasa ilişkin sitokrom p450 enzimlerinin uygunsuz aktivasyonu, serbest radikal oluşumu, membran lipid peroksidasyonunda artma, kemokinler aracılığı ile inflamatuvar sürecin başlaması sonucu dokuda kronik değişikliklerin geliştiğini varsayar (22). Kronik pankreatit patogenezindeki son gelişmeler ise idiyopatik kronik pankreatitli olgularda kistik fibrozis transmembran konduktans regülatör (CFTR) mutasyonlarının, herediter pankreatit olgularında ise katyonik tripsinojen gen mutasyonlarının bildirilmesidir. Bu mutasyonlar sonucu, tripsinojen tripsin tarafından aktive edildikten sonra inaktivasyona karşı direnç kazanmakta, klinik ve subklinik akut pankreatit atakları sonrası kronik pankreatit gelişmektedir (23,24). Bu patofizyolojik açıklama ile nekrozis- fibrozis teorisi desteklenmektedir. Pankreas hastalıklarının anlaşılmasında moleküler genetik alanındaki gelişmeler hastalığa yeni yaklaşımlar sağlamıştır. Yapılan genetik analizler ile akut ve kronik pankreatite eğilim yaratan mutasyonlar belirlenmiştir. Bu çalışmalarla etyolojinin sınıflandırılması ve risk faktörlerinin belirlenmesi yanısıra hastalığın klinik bulgular ortaya çıkmadan önce tanımlanması olası kılınmaktadır. En iyi tanımlanmış genetik mutasyonlar katyonik tripsinojen geninde, pankreatik sekretuar tripsin inhibitörü (PSTI) gen ve CFTR

mutasyonlarıdır. Bu genetik mutasyonlar, herediter, ailesel ve idiyopatik kronik pankreatit olgularında bildirilmiştir. Herediter pankreatitli olgularda katyonik tripsinojen gende (PRSS1) bazı mutasyonlar belirlenmiş, ek olarak ailesel pankreatitte ve bazı idiyopatik pankreatit olgularında SPINK1/PSTI mutasyonları bildirilmiştir (25,26)

3.1.2. Kronik Pankreatit Epidemiyolojisi

KP insidansı yapılan çalışmalarda yıllık 4-13/100000 arasında bulunmuştur. KP insidansı giderek artmaktadır. Bu artışta en önemli faktör, özellikle batıda daha yaygın olan alkol tüketimidir (27). Japonya’da, ileri tanı teknikleri kullanılarak yapılan bir çalışmada ise KP prevalansı erkeklerde 45.4/100000, kadınlarda 12.4/100000 olarak bulunmuştur (28).

3.1.3. Kronik Pankreatit Etyolojisi

Erişkin yaş grubunda kronik pankreatit etyolojisinde alkol ve alkol kullanımına ek faktörler birincil neden olmakla beraber, çocukluk çağında kalıtsal nedenler (kistik fibrozis, herediter pankreatit), pankreatik kanal anormallikleri, metabolik hastalıklarla birliktelik sık görülen nedenlerdir. KP etyolojisinde, özellikle sanayileşmiş ülkelerde, alkol en önemli etkidir. Diğer sık görülen nedenler; herediter pankreatit, duktal obstruksiyon, tropikal pankreatit, sistemik hastalıklar (SLE, hiperparatiroidizm), idiyopatik pankreatit, kistik fibrozis geni mutasyonlarıdır. En sık kullanılan etyolojik sınıflama sistemi TIGAR-O tablo 1’de görülmektedir (29).

Tablo 1: TIGAR-O Etyolojik Sınıflama Sistemi

-
- **Toksik- Metabolik**
 - Alkolik
 - Sigara ve tütün kullanımı
 - Hiperkalsemi
 - Hiperlipidemi
 - Kronik böbrek yetmezliği (KBY)
 - İlaç kullanımı
 - Toksinler
 - **İdiyopatik**
 - Erken başlangıçlı
 - Geç başlangıçlı
 - Tropikal
 - Diğer
 - **Genetik**
 - Otozomal dominant
 - Otozomal resesif / modifiye genler
 - **Otoimmün**
 - İzole otoimmün KP
 - Diğer sendromlarla ilişkili otoimmün KP
 - **Rekürren ve Şiddetli Akut Pankreatit**
 - Postnekrotik (şiddetli akut pankreatit)
 - Rekürren akut pankreatit
 - Vasküler-iskemik hastalıklar
 - Radyasyon sonrası
 - **Obstruktif**
 - Pankreas divisium
 - Oddi sfinkteri bozuklukları
 - Kanal obtruksiyonu (örneğin; tümörler)
 - Preampullar duodenal duvar kistleri
 - Posttravmatik pankreatik kanal skarları
-

3.1.3.1. Toksik-Metabolik

Alkol: Alkol ile KP arasındaki ilişki 50 yılı aşkın süredir bilinmektedir ve dünya çapında sanayileşmiş ülkelerde KP'in baskın nedeni alkolizmdir. KP'li hastaların %55-80'i alkol kullanıcısıdır (3,30). Bununla birlikte alkol kullanımı KP gelişimi için tek başına yeterli değildir. Çünkü ağır alkol kullanıcılarının yalnızca %10'unda klinik olarak tanımlanan pankreatik hastalık gelişmektedir (31,32)

Sigara: Epidemiyolojik çalışmalar (33-36), KP gelişiminde sigara kullanımının bağımsız bir etkisi olduğunu göstermiştir. Sigara içimi insanlarda bikarbonat sekresyonunu inhibe etmekte, tripsin inhibitör kapasitesi ve alfa-1 antitripsin seviyelerini düşürmektedir (37,38)

Hiperkalsemi: Hiperkalsemi, muhtemelen, tripsinojen aktivasyonu ve tripsinin stabilizasyonu yolu ile akut pankreatit ile ilişkilidir (39,40)

Hiperlipidemi: Serum trigliserit değerinin 1000 mg/dl ve üzerinde olması akut pankreatit oluşturan bir faktördür. Tekrarlayan akut pankreatit atakları sonrasında bazı olgularda kronik pankreatit gelişimi bildirilmiştir (41)

Kronik Böbrek Yetmezliği: Böbrek yetmezliği, akut ve kronik pankreatitin artmış sıklığıyla birlikte. Çeşitli serilerde işlevsel ve morfolojik bozukluklar bildirilmiştir (42-45). Üremik toksinler bazı histolojik değişikliklerden doğrudan sorumlu tutulmakla beraber, gastrointestinal hormon profili değişiklikleri, bikarbonat ve protein sekresyonunun regülasyonunu yoluyla da değişikliklere katkıda bulunur (46-49).

İlaçlar ve Toksinler: Ammann ve arkadaşları, fenasetin kullanan 4 hastada renal yetmezlik ve kronik pankreatit bildirmişler. Bununla beraber; fenasetinin pankreas üzerindeki etkisinin renal yetmezliğin etkisinden ayrı bir etki olduğu kesin olarak gösterilememiştir (50,51). Organotin bileşiklerinin insanlarda KP'e neden olduğuna dair şüpheler mevcuttur. Bir organotin bileşiği olan dibutyltin dichloride (DBTC)'in ratlarda biliopankreatik kanal epitelinin toksik nekrozu yoluyla kanal obstruksiyonuna ve bunu izleyerek periduktal ve interstisyel fibrozise yol açtığı gösterilmiştir (52,53)

3.1.3.2. İdiyopatik Kronik Pankreatit

Tüm kronik pankreatit olgularının % 10-30'unu oluşturur. İdiyopatik kronik pankreatitin erken ve geç başlangıçlı olmak üzere iki tipi vardır. Kalsifikasyon gelişmesi, ekzokrin ve endokrin yetmezlik gelişimi 25 yıl civarında gerçekleşir. Bu nedenle çocukluk

çağında tanınan güçlükler yaşanabilir. Pankreatik kanal genellikle dilate değildir ve taş sıklıkla mevcut değildir (54,55)

3.1.3.3.Genetik Kronik Pankreatit

Otozomal Dominant: Herediter pankreatit olarak da adlandırılır ve kronik pankreatitli vakaların küçük bir kısmından sorumludur. Otozomal dominant olarak geçiş gösterir. Kuşaktan kuşağa aktarılan hatalı genin bulunduğu hastaların %80'inde kronik pankreatit gelişmektedir. Etkilenen kişilerin büyük çoğunluğunda semptomlar 20 yaşından, sıklıkla da 5 yaşından önce ortaya çıkmaktadır (56). Bazı etkilenen ailelerde tripsinojen gen kümesinde herediter kronik pankreatit ile ilişkili mutasyonlar saptanmıştır (25). Tripsin aktivitesi üzerine bu mutasyonların tam etkisi bilinmemekle birlikte, tripsin inaktivasyonunu etkilediği ve pankreasın otosindirimine yol açtığı bilinmektedir (57,58)

CFTR Gen Mutasyonları: Klasik kistik fibrozisli hastalar genellikle ekzokrin pankreas yetmezliği bulguları gösterirler. Hastalık ilerledikçe pankreas küçülür, kistik ve fibrotik bir görünüm alır. 30 yaş üstündeki olgularda %2-4 oranında pankreatit görülebilir (23). 1998 yılında çeşitli CFTR (kistik fibrozis transmembran kondüktans regülasyon) mutasyonları ile idiyopatik kronik pankreatit arasında birliktelik tanımlanmıştır (55,59).

SPINK1 (PSTI) Mutasyonları: Pankreatik sekretör tripsin inhibitör (PSTI) veya diğer adıyla serin proteaz inhibitör kazal tip 1 (SPINK1), 56 aminoasitten oluşan ve aktif bölgenin fiziksel blokajı yolu ile spesifik olarak tripsini inhibe eden bir peptiddir (26,60). Asiner hücrelerde tripsinojenin prematür aktivasyonunu engellemede birinci savunma hattı olarak etki etmekle birlikte, SPINK1 mevcut tripsinin yalnızca % 20'lik bir kısmını inhibe edebilecek kapasitededir (61). İdiyopatik KP'li ve tropikal pankreatitli olgularda da SPINK1 mutasyon sıklığı belirgin derecede artmıştır. SPINK1 N34S ve P55S mutasyonları göreceli olarak daha siktir ve genel popülasyonunun %2'sinde pozitifdir (62-64).

3.1.3.4.Otoimmün Kronik Pankreatit

Otoimmün KP karakteristik histolojik, morfolojik ve klinik görünümü ile ayrı bir durumdur. Hipergammaglobulinemi, otoantikör pozitifliği ve yoğun lenfositik infiltrasyon tipik bulgularıdır. Tek başına görülebileceği gibi, %60 olguda sistemik lupus (SLE), Sjögren Sendromu, prime bilier siroz, primer sklerozan kolanjit, Crohn Hastalığı, ülseratif kolit ve diğer immün aracılı hastalıklarla birliktelik gösterir. Olgularda pankreasta yer yer genişlemeler ve pankreas kanallarında darlıklar bildirilmiştir (65-67).

3.1.3.5.Tekrarlayan ve Şiddetli Akut Pankreatit

Akut ve kronik pankreatit arasındaki ilişki önemli bir tartışma konusudur. Nekrozis-fibrozis hipotezi kronik pankreatitin tekrarlayan akut pankreatit atakları (Sentinel Acute Pancreatitis Event: SAPE hipotezi) sonucu oluştuğunu öne sürmektedir (68,69). Öncü bir olay olarak akut pankreatit atağının monositleri etkilemesi ve PSH'in infiltrasyonu, farklılaşmasına ve/veya çoğalmasına neden olabilmesi için yeteri kadar şiddetli olması gereklidir (70). Son olarak fibrozisin olması için, yerleşik makrofajları uyaran asiner hücrelerden sitokinlerin salınımına yol açan oksidatif stres veya tekrarlayan pankreatit atakları yoluyla tekrarlayan asiner hücre harabiyetinin olması gerekmektedir (71).

3.1.3.6.Kronik Obstruktif Pankreatit

Ana pankreas kanalının kist, skar , taş, parazit, tümörle tıkanması , koledok kisti, duodonal duplikasyon, annuler pankreas, konjenital oddi sfinkter anormallikleri veya pankreatik divisium gibi pankreatik sıvıların yeterince drene olamayıp, parankimde basınç artışı ve buna ikincil gelişen patolojilere neden olan durumlar sonucu akut ve kronik pankreatit gelişebilir (72).

3.1.4.Klinik Belirtiler

Hastaların yaklaşık yarısı kronik hasar gelişmiş organdaki yeni akut pankreatit atağı ile kliniğe başvurur. Üçte birinin ise sadece karın ağrısı vardır. Diğerleri sarılık, kilo kaybı, malabsorbsiyon, steatore, diabetes mellitus ve üst gastrointestinal kanama ile gelirler (73).

Ağrı: Ağrı epigastriumda veya bu bölgeden subkostal yönde yanlara doğru ve arkaya doğru, bele, sırtta yayılan sürekli, künt özellikte şiddetli bir ağrıdır. Sırt üstü yatmak ağrıyı arttırır.Ağrı genelde yemeklerden sonra ortaya çıkar veya artış gösterir. Özellikle yağlı gıdalar ve alkol ağrıyı şiddetlendirir. Ağrı; 1) Pankreas sinirlerinin perinöral irritasyonuna, 2) Pankreas kanalının dilatasyonuna, 3) Pankreasta psödokist bulunuşuna, 4) Bütün bu faktörlerin kombinasyonuna bağlı olabilir. Ağrının patogenezi tam bilinmemektedir. Enflamatuvar patolojinin nöral invazyonu ve duktal hipertansiyon esas ağrı etkenleri olarak kabul edilmektedir (73-75).

Kilo Kaybı: Hastaların %50'sinden fazlasında görülür. Başlangıçta, karın ağrısının artacağı endişesi ile kalorinin düşürülmesi kilo kaybının başlıca sebebiyken, ilerlemiş pankreatitte kilo kaybının asıl sebebi emilim bozukluğu ve DM'le seyreden pankreas yetmezliğidir (74).

Emilim Bozukluğu: Pankreatik lipazın normal seviyesinden sadece % 10 ve daha fazla düşmesi ile yağların sindirimi zorlaşır ve beraberinde diyare ve steatore ortaya çıkar. Karbonhidrat malabsorbsiyonu kronik pankreatitte nadirdir. Çünkü nisasta malabsorbsiyonu için amilazın %97 oranında kaybı gereklidir. Azalmış pankreas ekzokrin fonksiyonu safra asitlerinin, su veya yağda çözünen vitaminlerin, demir veya kalsiyumun emilimini etkilemez. Bununla beraber vitamin B12 malabsorbsiyonu azalmış tripsin sekresyonuna bağlı gelişebilir (74,75).

DM: Kronik pankreatitin erken döneminde glukoz intoleransı yaygın olmasına rağmen, klinik diyabet hastalığı oldukça geç dönemde kendini gösterir. Bu tip diyabette

ketoasidozis ve diyabetik nöropati nadir görülür. İnsülin reseptörleri algılama yeteneklerini henüz kaybetmedikleri ve insülin antikoru henüz vücutta bulunmadığı için genetik diyabetli hastalara oranla bu hastalarda insülin gereksinimleri genellikle düşüktür (73-75).

3.1.5. Laboratuvar Bulguları ve Tanı

Kronik pankreatitin sinsi seyri birçok hastada erken tanıyı geciktirir. Hastalar genelde bez yapısında belirgin hasar olduktan sonra hekime başvurur. Hastalığın tanısında henüz özgül bir yöntem yoktur. Hastanın tekrarlayan ve tipik yerleşim yayımlı karın ağrısı ile steatore ve/veya DM işaretleri gibi klinik verileri ile birlikte pankreasın yapısal ve fonksiyonel incelenmesinden yararlanır (74,75)

Fizik bakıda kronik pankreatite özgü bir bulgu yoktur. Bazı hastalarda epigastriumda hassasiyet vardır. Malabsorbsiyonu olan hastalarda kilo kaybı olabilir. Pankreas başındaki skar dokusuna bağlı koledok tıkanması ile sarılık görülebilir (74,75).

Serumun biyokimyasal incelenmesinde kronik pankreatite özgü bir bulgu yoktur. Akut atak sırasında bile serum amilaz ve lipaz değerleri yükselmeyebilir. Ağrı atakları tekrarlayıp, pankreas doku rezervi azaldıkça amilaz ve lipaz düzeyleri düşer. Koledok tıkanıklığı ile birlikte, kolestatik karaciğer enzim profili ortaya çıkabilir. Bu durum görüntüleme yöntemleri ile doğrulanmalıdır (74-76).

72 saatlik kantitatif dışkı yağ ölçümü pankreasın ekzokrin fonksiyonunu değerlendirmenin en basit yoludur. Eğer ekzokrin sekresyon %90'dan daha fazla azalmış ise, dışkıda artmış yağ miktarı (>7g/gün) gözlenir, ama bu test ne hassas ne de özgüdür (74,76)

Sekretin veya kolesistokinin stimülasyon testi; distal duodenuma yerleştirilmiş bir kateter yoluyla pankreatik sekresyonların simultane toplanması ile yapılır ve pankreas fonksiyon testleri arasında en duyarlı olanıdır (%90-95). Toplanan sıvı bikarbonat (sekretin

salınımı) açısından veya lipaz ve tripsin açısından incelenir. Oldukça zaman alıcıdır (2 saat) ve çok yaygın kullanılmaz (74,76).

Lundh test yemeği pankreasın ekzokrin sekresyonunun endojen yolla uyarılmasını sağlar. Hastaya test yemeği verildikten sonra, 2 saat boyunca proksimal jejunal aspirat toplanır ve tripsin düzeyi ölçülür. Bu test sekretin uyarı testi kadar duyarlı değildir (74,76).

Bentiromide testi: Bentiromide proksimal ince bağırsakta kimotripsin ile parçalanıp p-aminobenzoik asidin (PABA) ortaya çıktığı sentetik bir proteindir. PABA normal şartlarda emildikten sonra karaciğerde konjuge edilir ve idrar ile atılır. Altı saatlik idrarda açığa çıkan PABA'nın verilenin %60'ından az olması pankreas yetersizliğini destekler. Duyarlılığı % 37-90'dır (74,76).

Görüntüleme yöntemleri: Direkt karın grafilerinde olguların 1/3 kadarında pankreasta kalsifikasyonlar ve akciğer grafisinde plevral efüzyon görülür. Ultrasonografi ile pankreas parankimi, kanalların durumu (darlıklar ve genişlemeler), kist ya da psödokistler, hepatobiliyer sistem patolojileri saptanabilir. Endoskopik ultrasonografi (EUS) yapıldığında hem duktal hem de parankimal yapılarla ilgili, özellikle erken veya orta derecede ilerlemiş kronik pankreatitlerde, diğer görüntüleme yöntemleriyle henüz belirlenemeyen değişiklikler hakkında daha fazla bilgiler elde edilir. Bilgisayarlı tomografi ile daha yüksek oranda tüm abdomen ile ilgili detaylı ve güvenilir bulgular elde edilir. Pankreatik duktal anatomi en iyi endoskopik pankreatikografi (ERCP) ile gösterilir. Dilatasyon, kistik değişiklikler, darlıklar ve taşlar görüntülenebilir. ERCP ayrıca, kronik pankreatit ve pankreas kanseri ayrımı yapmada oldukça duyarlıdır ve sitolojik inceleme için materyal almayı da sağlar (74-77)

3.1.6.Doğal Seyir ve Prognoz

KP pankreasın devam eden inflamasyonu ile ortaya çıkan ilerleyici yıkım ve fibrozis sonucu gelişir. Pankreasın ekzokrin dokusu ve fonksiyonları erken dönemde kaybolur ve

bunu endokrin parankim ve fonksiyonlardaki kayıp izler. Hastalık sıklıkla başlangıç döneminde, ağrıdan sorumlu olan akut pankreatit atakları ile komplike olur. Yıllar süren inflamasyon ve fibrozis ile birlikte malabsorbsiyon, steatore ve diabetes mellitusla sonuçlanan pankreas yetersizliği gelişir. Akut ataklar azalır ve ağrı genellikle kaybolur. İki yılı aşan KP olgularında pankreas kanseri riski artmıştır. KP tanısından 20 yıl sonra pankreatik karsinoma için kümülativ risk % 4'dür (3,78).

3.1.7.Kronik Pankreatit Patofizyolojisi

Kronik pankreatit ekstrasellüler matriks (ESM) içerik ve formasyonunda büyük değişiklikler ile karakterizedir. Artmış ekstrasellüler matriks depolanmasının sonucunda fibrozis gelişir (4). Ekstrasellüler matriks dört büyük makromolekül sınıfını içerir; kollajenler, proteoglikanlar, yapısal glikoproteinler ve elastin (5). Pankreatik fibrozis (PF), KP'in tipik histopatolojik bulgusu olup, alkol bağımlılığı, biliyer hastalıklar, akut pankreatit, karaciğer sirozu, hemokromatozis, iskemi ve benzeri nedenlerle gelişebilir. PF'nin görüldüğü diğer önemli bir klinik ise pankreas kanseridir (79). Pankreas fibrozisinde başlangıç olay çeşitli doku kompartmanlarının veya pankreas hücre tiplerinin hasarıdır. Pankreas fibrozisi gelişmeden önce pankreatik dokuda inflamasyon meydana gelir ve hasarlı dokuda lökositler toplanır. PF'de rol oynayan temel hücre olan pankreatik stellat hücreler (PSH) inflamatuvar hücrelerin toplanmasında da rol alır. İnflamasyonda PSH'ün rolünü destekleyen bulgu inflamatuvar düzenleyici moleküllerin sadece aktive PSH'de ekprese olmasıdır. Asiner hücrelerdeki bu erken inflamasyon sonrasında salınan sitokinler nekroz ve apoptozun asiner seviyede başlamasına neden olur. Bunu inflamatuvar hücreler (özellikle makrofajlar) ve/veya hasar yerinde daha önceden var olan epitelyal veya mezenkimal hücrelerden sitokinler/büyüme faktörleri (TGF- β 1 ve PDGF) ve kemokinlerin salınımı izler. İkinci adım hasarlı hücrelerin

makrofajlar tarafından fagositozu ve salınan sitokinlerin etkisiyle sessiz fibroblastların veya PSH' in aktivasyonu ve proliferasyonudur (80).Alternatif bir hipotez ise; ilk iki basamak by-pass edilir ve etyolojik faktör (örneğin alkol aşırı tüketimi) doğrudan sessiz fibroblastları aktive eder. Son aşama ise aktif miyofibroblastlar tarafından ESM üretimi ve depolanmasıdır. Myofibroblastlar aynı zamanda, ESM'in yeniden şekillenmesini kolaylaştırmak için, normal perisellüler ESM'i parçalayabilen metalloproteinazlar gibi özelleşmiş enzimleri de üretme yeteneğine sahiptir. Başlatıcı faktör ortadan kaldırılırsa ESM üretimi durur ve myofibroblastlar apoptozis ile yok olur veya sessiz fibroblastlara dönüşür (81).

3.1.7.1. Pankreatik Stellat Hücreler

Seksenli yıllarda fare, rat ve insan pankreasında retinoid ve yağ damlaları içeren hücreler saptanmış ve bunların pankreas remodellingi ve fibrozisinde potansiyel bir rolü olabileceği öne sürülmüştür. A vitamininden zengin bu hücrelerin aktive şekillerinin fibroziste rol aldığı gösterilmiştir. 1998 yılında Bachem ve arkadaşları, retinoid depolamaları ve morfolojik yönden hepatik stellat hücrelere benzemeleri nedeniyle bu hücrelere pankreatik stellat hücre (PSH) adını vermiştir (6). Periasiner dağılım gösteren PSH'ler tüm pankreatik hücrelerin %4'ünü oluşturur ve kollajen tip I-III, fibronektin ve laminin üretirler (82).Asinus tabanını saran uzun sitoplazmik çıkıntıları olan PSH'ler perivasküler alan ve periduktal alanlarda da bulunurlar (83).

İnaktif/Aktif PSH: PSH normal şartlar altında aktif değildirler. İnaktif PSH'lar triangüler, lipid içeren ve predominant olarak perivasküler bölgede yerleşen hücrelerdir. Desmin ve glial fibriler asidik protein ile pozitif boyanıp A vitamini depolarlar. Sessiz PSH'ler non-proliferatiftir ve bu evrede kollajen üretiminin fazlalık sırası tip 4, tip 3 ve tip 1 şeklindedir. Pankreatik fibroziste rol alan PSH'ler ise aktiftir. Sessiz yağ depolayan

hücreden hızlı çoğalan miyofibroblast-benzeri hücreye dönüşüm hücre sel retinol içeriğinde azalma, granüllü endoplazmik retikulum artışı ve artmış ekstra selüler matriks (ESM) üretimi ile ilişkilidir. Aktive olan PSH'ler periasiner bölgeye göç edip lipid damlalarını kaybeder, fibroblast benzeri şekil alır ve alfa düz kas aktin (α -SMA) ile pozitif boyanırlar. En çok kollajen tip 1 olmak üzere tip 3, laminin ve fibronektin üretirler. PSH'lerin aktivasyonu sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri, oksidatif stres ürünleri ve ESM içeriği gibi çeşitli soluble madde ile düzenlenir (84).

3.1.7.2. Sitokinler ve Kronik Pankreatit

Pankreatik fibroziste PSH aktivasyonunu uyaran sitokinler plateletler, makrofajlar ve asiner hücrelerden kaynaklanan transforming growth faktör (TGF)- β , tümör nekrozis alfa (TNF- α), platelet derive growth faktör (PDGF), aktivin A, temel fibroblast büyüme faktörü, interlökin (IL) 1 ve 6'dır.

TNF- α ve IL'ler: PSH proliferasyonu TNF- α ile uyarılırken, interlökin (IL) 6 ile inhibe olmaktadır. PSH tarafından kollajen sentezi TNF- α ve IL 10 ile uyarılırken yine IL6 ile baskılanır. Ayrıca, TNF- α ve IL6'nın uyarılması artmış alfa düz kas aktin ekspresyonuna neden olur (85).

TGF- β 1: TGF- β hücre çoğalması, farklılaşması, gelişimi, anjiyogenezis, yara iyileşmesi ve fibrozis gibi çeşitli patofizyolojik süreçlerde yer alan bir sitokin ailesidir. Asiner hücrelerden hücre hasarına sekonder olarak salınır ve PSH'ler üzerinde otokrin ve parakrin etkileri vardır. TGF- β 1, PF'de merkezi role sahiptir, inflamatuvar hücrelerin olay yerine göçü ve aktivasyonuna yardım eder, PSH'leri aktive eder. TGF- β 1 KP'te doku remodellingi ve fibroziste yer alır, ESM üretimini artırır ve immün aktivasyonu baskılar (86).

İnsan asiner hücrelerinde TGF- β 1 aktivitesi TGF- β 2 ve TGF- β 3'den daha yüksek iken, duktal hücrelerde her üç alt tipin aktivitesi benzerdir (87). Akut pankreatit sonrası doku rejenerasyonu süresince fibronektin ve kollajen ekspresyonuna TGF- β yüksekliğinin eşlik ettiği görülmüştür. Rat çalışmalarında TGF- β 1 nötralizan antikorların kullanımı ile ESM ve kollajen depozisyonunun azaldığı görülmüştür (88).

Aktif TGF- β 1 aşırı ekspresyonuna sahip olan transjenik fare çalışmalarında pankreas dokusunda fibroblast proliferasyonunun ve ESM depolanmasının arttığı, asiner ve sentroasiner hücre proliferasyonunun inhibe olduğu gösterilmiştir. Rekombinant TGF- β 1'in tekrarlayan enjeksiyonları ile oluşturulan akut pankreatit atakları da PF'le sonuçlanmaktadır (88)

Bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF): İnflamatuvar pankreas hastalıklarında artan diğer bir büyüme faktörüdür. Fibroblast proliferasyonu ve ESM üretiminde rol alır. Bağ dokusu hücreleri TGF- β 1 ile aktive olduktan sonra CTGF sekrete ederler (84).

PDGF: İnsan ve rat PSH' inin her ikisi içinde en etkili mitojen olan PDGF (6), pankreasta doku tamiri sırasında plateletler, mononükleer hücreler ve makrofajlar gibi hücrelerden sekrete edilmektedir. PDGF-A ve-B adlı iki peptid zincirinden oluşan bir dimerdir. PDGF'nin PDGF-AA, PDGF-BB ve PDGF-AB olarak adlandırılan izoformları da vardır. PSH'ler için en güçlü mitojen PDGF-BB'dir (89,90).

3.1.7.3.Oksidatif Stres ve Kronik Pankreatit

Bazı araştırmacılar tarafından pankreatik hastalıkların nedeni olarak karaciğer karma işlevli oksidazların (MFO) aşırı aktivitesi öne sürülmüştür. Bu enzimler kanda taşınan zararlı maddelerin detoksifikasyonuna yardımcı olmakla birlikte, ortaya çıkan yan ürünler oksidatif hasara yol açabilirler. Sistemik dolaşım veya safra yollarından pankreatik kanala reflü yolu ile pankreasın maruz kaldığı bu oksidatif stres sonucu

inflamasyon ve doku hasarı oluşur (17).Aşırı yağlı beslenme gibi substrat fazlalığı olan durumlar veya alkol gibi indükleyicilerin alımında MFO'ların aktivitesindeki artış ile oksidatif stres daha da ağırlaşır. Az miktardaki duodeno-pankreatik reflü bile oksidatif hasarın derecesini arttırabilir. Ratlarda kronik alkol alımı geliştirildiğinde, safrada lipid peroksidasyon (LPO) ürünü olan malondialdehid (MDA) ve glutasyon seviyelerinin arttığı gözlenmiştir (18). KP'li hastaların safralarında LPO ürünleri, bakır oksidazlar ve serbest radikal yoğunluğunda artış saptanmıştır (19). Okside ürünler peroksidasyon yolu ile hücrelerin lipid membranlarında hasara yol açar. Bunun sonucunda lizozomlar ve zimojen granüllerin fragilitesi artar. Bunu otosindirim, mast hücrelerinde degranülasyon, platelet agregasyonu ve sonuç olarak inflamatuvar hasar takip eder (5).

3.1.7.4.Alkol ve Kronik Pankreatit

İn vitro çalışmalarda etanolün PSH'leri doğrudan etkileyip aktive ettiği görülmüştür. Alfa düz kas ekspresyonunu ve kollajen sentezini arttırırlar. Alkolun uyarıcı etkisi hem sessiz hem de aktive PSH'ler üzerinedir. PSH'lerde oksidan stresin uyarılması da etanolün profibrojenik etkilerine katkıda bulunur (91).

3.1.7.5. Matriks Metalloproteinazlar ve Kronik Pankreatit

Matriks metalloproteinazlar (MMP), doku remodelingi ve tamirinde düzenleyici rolü olan bir proteolitik enzimler ailesidir. İnaktif proenzimler olarak sekrete edilir ve bir aminoterminal peptidin proteolitik yıkımı ile aktive olurlar. MMP aktivitesinin ileri kontrolü alfa-2-mikroglobülin ve MMP doku inhibitörleri (TIMP 1-4) gibi proteinaz inhibitörleri ile olur (4). Çeşitli inflamatuvar hastalıklarda MMP ve TIMP arasındaki denge bozulmuştur. KP'de MMP-2 seviyeleri artmıştır. Ancak MMP/TIMP oranının artışıyla fibrozisin derecesi arasında bir korelasyon bulunamamıştır (92).

3.2.Deneysel Kronik Pankreatit Modelleri

3.2.1.DBTC İle İndüklenen Kronik Pankreatit

Dibutyltin dichloride (DBTC) bir organotin bileşiği olup biliopankreatik kanal epiteline sitotoksik etki göster. Bu etkiyi takiben epitelyal nekroz ve nekroza bağlı kanala dökülen ölü epitel artıklarının kanalı tıkaması sonucu kanal obstruksiyonu oluşur. Sonuç olarak obstruktif kronik pankreatit meydana gelir.Ayrıca DBTC'nin pankreatik hücrelere direk toksik etkisiyle (mitokondrial hasar, otofaji, hücre nekrozu) intersitisyel ödem ve inflamasyon gelişir. Bu modelde DBTC, etanol ve gliseol karışımı içinde çözülerek, tek sefer 6-8 mg/kg dozunda kuyruk veninden intravenöz olarak uygulanır. Uygulamadan ortalama 4 hafta sonra fibrozis gelişimi görülür (53,93)

3.2.2.Cerulein İle İndüklenen Kronik Pankreatit

Kolesistokinin (CCK) reseptörleri aracılığı ile pankreatik asiner hücrelerden sindirim enzimlerinin salınmasını uyaran bir dekaeptiddir (94).Bu modelde cerulein 50 mg/kg/gün dozunda 3 gün intraperitoneal olarak verilir. Bu sürede bilier pankreatik kanala ligasyon uygulanır. Uygulamadan 48 saat sonra akut enflamasyon, 7 gün sonra aşırı derecede kollajen depolanması gelişir (95).

3.2.3.Alkol İle İndüklenen Kronik Pankreatit

Alkol, KP nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Deneysel alkole bağlı KP modelinde intragastrik beslenme tüpü yoluyla 4 hafta boyunca etanol uygulanır. Etanol 16gr/kg/gün dozunda başlanır ve 3 günde bir doz 1gr/kg/gün arttırılır. 15. günden itibaren 20gr/kg/gün dozu ile 28 güne tamamlanır (96).

3.2.4.TNBS İle İndüklenen Kronik Pankreatit

Trinitrobenzen sulfonik asid (TNBS) ratlalarda pankreatik kanal hasarı ve takibinde nekroinflamasyona yol açan bir kimyasal toksindir. %2'lik TNBS, fosfat bazlı

salin ve %10 etanol ile birlikte, cerrahi olarak yerleştirilen bir kanül ile ampulla vateriden pankreatikobilier kanala 60 dakikada infüze edilir. İnfüzyonu takiben 4 hafta sonra pankreatik nekroinflamasyon oluşur (97).

3.2.5.Spontan Kronik Pankreatit

Wistar-Bonn/Kobori ratlarında KP'in karakteristik lezyonları (asiner atrofi ve fibrozis) spontan olarak oluşmaktadır. Bu lezyonlar ilk olarak 12. haftadan sonra görölmeye başlar (98).

3.3.Tedavi

Etiyolojisi ne olursa olsun KP, süregelen bir ağrı, ekzokrin ve endokrin dokunun progresif kaybı ve çevre organların tutulumuna bağlı komplikasyonlarla karakterizedir. KP'nin tedavisindeki amaç; ağrının giderilmesi, ekzokrin ve endokrin yetmezliğin önlenmesi veya tedavisidir. KP tedavisindeki prensipler ise, sırasıyla; nedenin ortadan kaldırılması, ağrının tedavisi, ekzokrin pankreas yetmezliğinin tedavisi, endokrin pankreas yetmezliğinin tedavisi ve komplikasyonların tedavisidir (99).

3.3.1.Nedenin Ortadan Kaldırılması

Tropnell'e göre alkolün kesilmesi ağrıyı %75 oranında gidermektedir (100).Nedeni de alkolün pankreatik sekresyonu uyarmasıdır. Bornman ve arkadaşları da alkol almaya devam edenlerin yarısında ağrı olduğunu göstermişlerdir (101).

3.3.2.Ağrının Tedavisi

KP'li hastalarda ağrı tedavisi birlikte alkol kullanımı, narkotik bağımlılığı ve psikolojik bozukluklar nedeniyle komplikedir. Ağrı tedavisindeki birinci basamak alkolün kesilmesidir. KP ağrısı tedavisinde gastrointestinal motiliteyi etkilemeyen asetaminofen, propoksifen, tramadol gibi analjezikler kullanılmalıdır (102). İntrapankreatik basıncın

azaltılması (pankreatik sekresyonun suprese edilmesi, girişimsel endoskopi, oktreatid) pankreatik ağrıda anlamlı azalmalar yapabilir (103-107).

3.3.3.Ekzokrin Pankreas Yetmezliğinin Tedavisi

Ekzokrin pankreatik yetmezlik (EKPY), pankreas enzimlerinde genel veya izole azalma veya ince barsaklardaki enzim aktivasyonundaki yetersizlikten kaynaklanabilir. Sindirim enzimlerinin %90'ından fazlası azalmadan açık malabsorbsiyon görülmez (108). Ekzokrin pankreas yetmezliğinin tedavisi diyet ve pankreatik enzim replasmanıdır. Hastaların % 10-15'inde enteral beslenme gerekebilir (109,110).

Ekzokrin pankreas yetmezliğinde enzim ekleme endikasyonları; kantitatif fekal yağ miktarının 15 gr/gün üzerinde olması, devam eden kilo kaybı, protein ve karbonhidratların malabsorbsiyonu, dispepsi, meteorizm ve diyaredir. Pankreatik enzim preparatlarının en önemli bileşeni lipazdır (111-113). Bakteriye lipazlar EKPYP'nin tedavisinde umut vermektedir ve bu konudaki çalışmalar sürmektedir (114)

3.3.4.Endokrin Pankreas Yetmezliğinin Tedavisi

KP'de inflamatuvar hastalık, ilerleyici doku hasarı ile fibrozis ve skleroza yol açar. Bu olay Langerhans adacıklarını da etkiler ve fibrozisin ilerlemesi β hücre kitlesini azaltır. Fibrozis ve skleroz pankreatik kapiller dolaşımı bozup, adacık perfüzyonunu azaltır. Pankreastaki β hücrelerinin %80'i hasar gördüğünde açlık hiperglisemisi gelişir (115,116). Pankreatik yetmezliğe sekonder diyabet diyet ve insülinle tedavi edilir. Bu tip diyabet oral antidiyabetiklere çok az cevap verir veya hiç vermez (117,118).

3.3.5.Deneysel Tedavi Yöntemleri

Mevcut tedavi yöntemleri KP'in tedavisinden çok sonuçlarına yöneliktir. Yeni, deneysel tedavi yöntemleri ise hastalığın patogenezinine, özellikle ilerleyici fibrozise yönelik çözümler bulmayı amaçlamaktadır (119).

3.3.5.1. Antioksidanlar

Deneysel KP rat modelinde vitamin E ile tedavi myofibroblast sayısında azalma ve fibrozis skorunda düzelme sağlamıştır (120). Ayrıca TGF- β , pankreatik hidroksprolin ve plazma hyaluronik asid seviyelerinde de azalma gözlenmiştir (121). Bir başka çalışmada ise vitamin A tedavisinin PSH'lerin aktivasyonunu inhibe ettiği görülmüştür (121). Yeni bir antioksidan ve antienflamatuar fitokimyasal olan DA-9601, bir KP fare modelinde nükleer faktör kappa B (NF- κ B) bağlayıcı aktivitesini azaltarak indüklenbilir nitrik oksid sentetaz (iNOS) ve myeloperoksidaz seviyelerini azaltmıştır. PSH kültüründe α -SMA ve kollajen tip 1 üretimi azalmış ve pankreatik fibrozisde de belirgin gerileme gözlenmiştir (122).

3.3.5.2. PPAR- γ Ligandları

Peroksizom proliferatör aktivatör reseptör gama (PPAR- γ) ailesinden bir thiazolidinedion türevi olan troglitazon ile KP'e yönelik pek çok çalışma (123-126) yapılmıştır. Bu çalışmalarda PPAR- γ ligandlarının inflamatuvar cevabı inhibe ettiği ve hepatik stellat hücrelerden, aortik düz kasdan ve böbrekten TGF- β üretimini azalttığı yönünde izlenimler elde edilmiştir. Yakın zamanda yapılan bir rat çalışmasında troglitazonun gerçekten TGF- β seviyesini ve PSH'lerin sayısını azalttığı; bu yolla enflamasyon, fibrozis ve pankreatik hasarı inhibe ettiği gözlenmiştir (123-126).

3.3.5.3. Camostat Mesilate

Oral alınan bir serin proteaz inhibitörü olup, ratlarda pankreatik sekresyonları azalttığı bulunmuştur. Bu etkisini, insan ve hayvanlarda, kolesistokininin tek başına veya sekretin ile birlikte feedback kontrolü ile göstermektedir (127,128). Camostat mesilatın PAP, p8, IL-6 ve TGF- β gen ekspresyonlarının baskılanması yolu ile pankreatik enflamasyonu, PSH'in uyarılmasını ve sonuç olarak fibrozisi inhibe ettiği gösterilmiştir

(129). Yakın zamandaki bir diğer çalışmada, oksidan hasarla indüklenen pankretik fibrozis rat modelinde camostat mesilatın önleyici etkisi gözlenmiştir (130).

3.3.5.4.Lovastatin

Lovastatin bir HMG-CoA redüktaz inhibitörü olup, yakın zamanda kolesterol düşürücü etkisinin yanısıra antiproliferatif ve proapoptotik etkisi de bulunmuştur (131,132).Rat PSH'nin kullanıldığı in vitro deneysel çalışmalarda lovastatinin fibroblast benzeri hücrelerin proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (133,134)

3.3.5.5.Diğerleri

Bunların dışında pentoksifilin, oksipurinol, TGF-β nötralizan antikolar, TNF-α antikor ve reseptör blokerleri ile tedavi çalışmaları devam etmektedir (12,135,136)

3.4.Genistein

Genistein (4',5,7-trihidroksiizoflavon), izoflavonoid bileşiklerinin biyosentetik olarak en basitidir. Soya fasulyesinde bulunan genisteinin birçok biyolojik aktivitesi mevcuttur. Yapı olarak 17β-östradiole benzer ve hem östrojenik hem de antiöstrojenik etkileri mevcuttur. Diğer izoflavonlarda olduğu gibi majör kaynak soya ürünleridir. Genisteinin meme ve prostat kanseri ve kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir (137). Genistein DNA topoizomeraz ve tripsin protein kinazı inhibe etmektedir. Bunun yanında antioksidandır ve hücre siklusunu inhibe eder. Kanser önleyici etkilerinin yanında, genisteinin anti tümör, anti oksidan ve anti enflamatuar etkileri de mevcuttur (138). Yakın zamanda yapılan iki in vitro çalışmada (139,140) genisteinin rat hepatik steallat hücrelerinin proliferasyon ve aktivasyonunu inhibe ettiği ve karaciğer fibrozisini önleyici potansiyel etkileri olabileceği bildirilmiştir (139,140).

4.GEREÇ VE YÖNTEM

4.1.Deney Hayvanları

Çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (FÜTDAM) yapıldı. Çalışmada, FÜTDAM'dan temin edilen, ağırlıkları 121-256 gram arasında değişen, 90 adet sekiz haftalık erkek Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar beşerli olarak, paslanmaz çelik kafeslere konuldu. Ratlar çalışma süresince, 12 saat ışık/karanlık siklusunun sağlandığı, ısı (23-25°C) ve nemin kontrol edildiği ortamda muhafaza edildi. Deneye, ratlar çalışma ortamına bir hafta uyum sağladıktan sonra başlandı. Deney öncesinde 30 rat kullanılarak dibutylin dichloride (DBTC) ile kronik pankreatit ve fibrozis oluşumu için gereken en uygun sürenin (ortalama dört hafta) belirlendiği bir pilot çalışma yapıldı.

4.2.Deney Hayvanlarının Beslenmesi

Su ve standart rat yemi ratlara ad libitum olarak verildi. Standart rat yemi Özel Elazığ Yem Fabrikası'ndan alındı. Ratlara günlük 10gram/100gram dozunda yem verildi. Yemler özel çelik kaplarda, su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda verildi.

4.3.Grupların Dağılımı ve Çalışmanın Dizaynı

Pilot çalışma sonrasında kalan ratlar her grupta 15 rat olmak üzere dört gruba randomize olarak dağıtıldı.

Grup 1 (Kontrol grubu): Tüm deney süresince (4 hafta) standart rat yemi ve su ile beslendiler. Herhangi bir tedavi almadılar.

Grup 2 (Plasebo grubu): Tüm deney süresince standart rat yemi ve su ile beslendiler. Çalışmanın başında DBTC tek doz 7 mg/kg kuyruk veninden intravenöz (IV) olarak yapıldı. Deney süresince (4 hafta) 0.5 ml serum fizyolojik subkutan (SC) günde bir kez uygulandı.

Grup 3 (Genistein koruyucu grup): Tüm deney süresince standart rat yemi ve su ile beslendiler. Çalışmanın başında DBTC tek doz 7 mg/kg kuyruk veninden IV olarak yapıldı. Deney süresince (4 hafta) 0.2 mg/kg/gün dozunda genistein SC olarak uygulandı.

Grup 4 (Genistein tedavi edici grup): Tüm deney süresince (6 hafta) standart rat yemi ve su ile beslendiler. Çalışmanın başında DBTC tek doz 7 mg/kg kuyruk veninden IV olarak yapıldı. Dördüncü haftadan sonra 2 hafta süre ile 0.2 mg/kg/gün dozunda genistein SC olarak uygulandı.

4.4.Genisteinin Hazırlanması, Dozu ve Uygulanması

Genistein (Sigma/Türkiye), 100 mikrolitre DMSO (%1.25) ve PEG-400 (%98.75) karışımında çözülerek hazırlandı ve +8°C’de muhafaza edildi. Grup 3 ve 4’deki ratlara 0.2 mg/kg/gün dozunda subkutan yolla enjekte edildi.

4.5.DBTC’nin Hazırlanması. Dozu ve Uygulaması

100 mg DBTC (Sigma/Türkiye) 6 cc etanolde çözüldükten sonra 4 cc gliserol ile karıştırılarak homojenize edildi. 0.1 cc’de 1 mg DBTC olacak şekilde ayarlandı

4.6.Çalışmanın Sonlandırılması ve Örneklerin Toplanması

1., 2., ve 3. gruptaki ratlar 4. haftanın sonunda 4. gruptaki ratlar ise 6. haftanın sonunda bir gecelik açlığı takiben hafif pentobarbital anestezi altında dekapite edilerek kan ve doku örnekleri alındı. Bir gün öncesinde idrar örnekleri toplandı. Alınan kan örnekleri 5000 rpm’de 5 dakika süre ile santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri ve idrar örnekleri analiz edilinceye kadar -20°C’de saklandı. Abdomenleri açılıp pankreasları alındı. Uygun miktarda pankreas dokusu doku MDA ölçümü amacı ile homojenize edilmek için ayrıldıktan sonra kalan dokular daha önceden hazırlanmış %10’luk formalin solüsyonu ile tesbit edildi. Aynı gün Fırat Üniversitesi Histoloji Bilim Dalında parafin blokları hazırlandı.

4.7.Biyokimyasal Analizlerin Yapılması

Serum amilaz, lipaz ve glukoz düzeyleri OlympusAU 600 otoanalizörle Olympus kitler kullanılarak çalışıldı. Glukoz değerleri mg/dL, amilaz ve lipaz değerleri IU/L olarak verildi. TNF-alfa (TNF-alfa ELISA kit (rat), Biosource Int., California, USA) ve TGF-beta (TGF-beta ELISA kit (Multispecies), Biosource Int., California, USA) kitleri ile ELISA yöntemiyle çalışıldı, sonuçlar pg/mL olarak verildi. Pankreas doku MDA düzeyleri ise Ohkawa metodu ile ölçüldü (141), sonuçlar nmol/gramdoku olarak verildi. İdrar hidroksiprolin düzeyi HPLC yöntemi ile çalışıldı ve sonuçlar µmol/L olarak verildi.

4.8.Histopatolojik Değerlendirme

Parafin ile fikse edilmiş bloklardan beş mikrometre kalınlığında karaciğer kesitleri alınarak konvansiyonel histopatolojik inceleme için hematoksilin eozin (HE) ile boyandı. Fibrozis değerlendirilmesi için Masson Trichrom (MT) boyaması kullanıldı. Boyanan preparatlar Olympus BX-50 ışık mikroskobu ile x40, x100, x200 ve x400 büyütmelerde bu konuda uzman patolog tarafından kör olarak incelendi.

HE ve MT ile boyanan preperatların tüm alanları x400 büyüme ile ışık mikroskunda incelendi. Histopatolojik değerlendirmede inflamasyon, nekroz ve fibrozis değerlendirildi.

İnflamasyon: x400 büyütmede 10 rasgele alanda milimetrekarede inflamatuvar hücreler sayılarak ortalaması alındı ve mm²'deki inflamatuvar hücre sayısı belirlendi (142).

Nekroz; var veya yok olarak değerlendirildi.

Fibrozis ağırlığına göre; Grade 0: fibrozis yok, Grade 1:hafif, Grade 2:orta, Grade 3:şiddetli, Grade 4:çok şiddetli olarak değerlendirildi (143).

4.9.İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler, başka şekilde belirtilmedikçe, ortalama standart sapma olarak gösterildi. İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS 11.0 bilgisayar paket programı (SPSS Inc., Software Chicago, IL, USA) kullanıldı. Bağımsız gruplarda gruplar arası fark Kruskal Wallis testi ile, gruplar arasındaki farkın anlamlılığı ise Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. P değerinin 0.05' den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5.BULGULAR

Deney başlangıcında, takip edilen ratlardan grup 1’de 2 rat diğer ratlar tarafından saldırıya uğrayarak, grup 2’de 3, grup 3’de ise 2 rat IV enjeksiyon sırasında anesteziye bağlı olarak exitus oldu. Bu ratlar çalışmadan çıkarıldı. Deney süresince takip edilen diğer ratlarda herhangi bir anormal durum meydana gelmedi.

5.1.Biyokimyasal Bulgular

Plasebo grubu ile kontrol grubu, genistein koruyucu (GK) ve genistein tedavi edici (GT) grup arasında serum glukoz düzeyleri açısından anlamlı bir fark yoktu. Kontrol grubu, GK ve GT grupları arasında da serum glukoz düzeyleri açısından anlamlı bir fark yoktu.

Gruplardaki ortalama biyokimyasal veriler şekil 1-2 ve tablo 2’de gösterilmiştir.

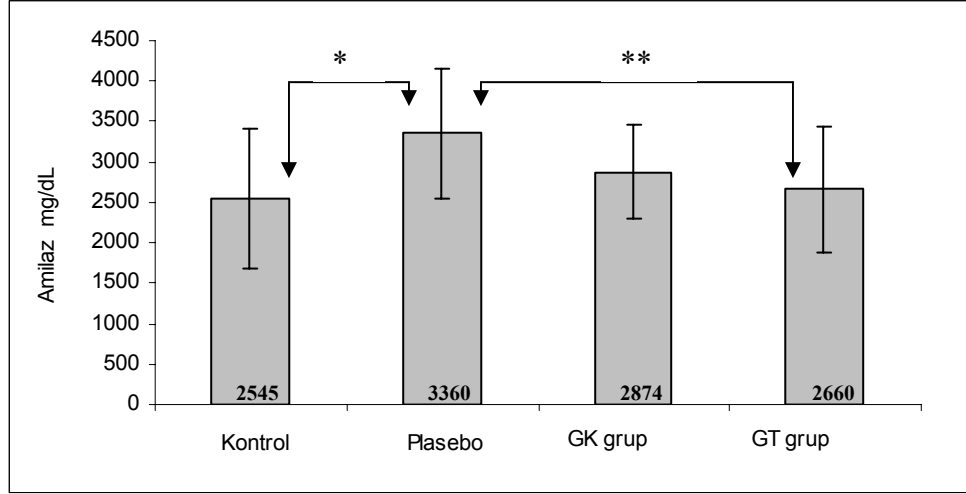
Tablo 2:Kontrol, plasebo, GK, GT gruplarında serum biyokimya verileri

Parametre	Kontrol	Plasebo	GK	GT
	n=13	n=12	n=13	n=15
Glukoz (mg/dL)	144 ± 33	143±16	152 ± 16	146 ± 20
Amilaz (U/L)	2545 ± 858	3360±806*	2874 ± 576	2660±772**
Lipaz (U/L)	5.7 ± 3.8	16.1±5.8***	9.7 ± 4.4 [¶]	8.3 ± 3.8**

Kontrol grubu ile plasebo grubu arasında: *:P<0.05, *:p<0.001**

Plasebo ile GT grubu arasında: **:p<0.05, Plasebo ile GK grubu arasında: [¶]:p<0.05

Amilaz değeri plasebo grubunda diğer gruplara göre yüksekti. Genistein tedavi grubunda (p<0.05) plasebo grubuna göre amilaz değerinde belirgin bir azalma sağlandı..

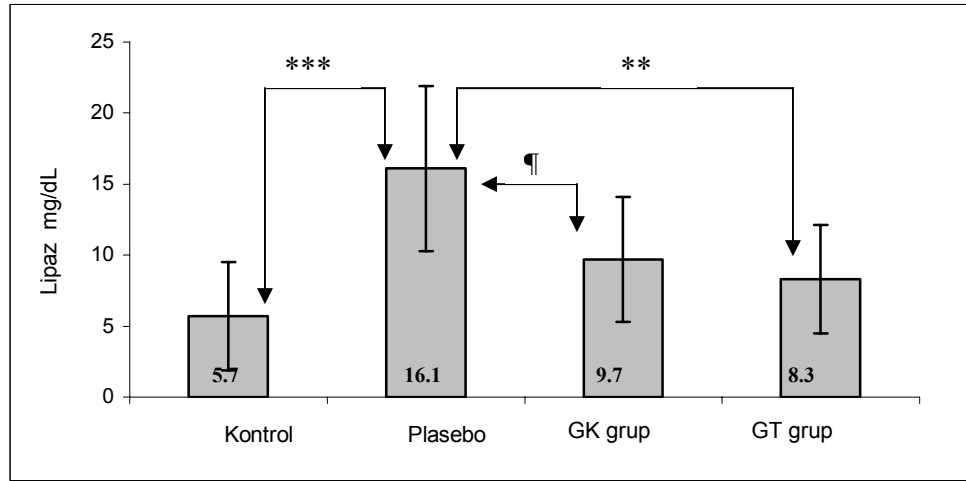


Şekil 1. Gruplar arasında serum amilaz değerlerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile plasebo grubu arasında: *:P<0.05

Plasebo ile GT grubu arasında: **:p<0.05

Lipaz değerinde ise hem genistein koruyucu (p<0.05) hem de genistein tedavi edici (p<0.005) grupta plasebo grubuna göre anlamlı bir azalma vardı.



Şekil 2. Gruplar arasında serum lipaz değerlerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile plasebo grubu arasında:***:p<0.001

Plasebo ile GT grubu arasında: **:p<0.005

Plasebo ile GK grubu arasında: ¶:p<0.05

5.2.Serum TNF- α ve TGF- β Düzeyleri

TNF- α değeri plasebo grubunda diğer gruplara göre yüksek olmasına rağmen plasebo grubu ile GK grup ve GT grubu arasındaki TNF- α değeri farklılıkları ise istatistiki olarak anlamlı değildi. Plasebo grubu ile kontrol grubu arasındaki fark ise istatistiki olarak anlamlıydı ($p<0.05$).

TNF- α 'nın aksine TGF- β değerini genistein tedavi edici grupta ($p<0.05$) plasebo grubuna göre anlamlı derecede düşük bulduk. Kontrol grubu ile GK grup ve GT grubu arasındaki TGF- β değeri farklılıkları ise istatistiki olarak anlamlı değildi.

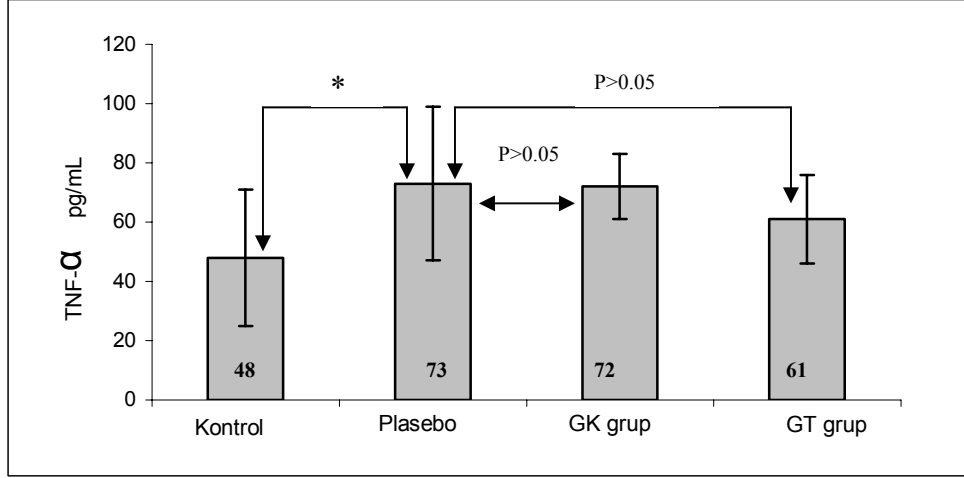
Serum TNF- α ve TGF- β değerleri tablo 3'de, bu değerlerin gruplar arasındaki karşılaştırılması şekil 3 ve 4'de gösterilmiştir

Tablo 3. Serum TNF- α ve TGF- β değerleri

Parametre	Kontrol	Plasebo	GK	GT
	n=13	n=12	n=13	n=15
TNF- α (pg/mL)	48.8 \pm 23.4	73.2 \pm 26.8*	72.0 \pm 11.4	61.9 \pm 15.8
TGF- β (pg/mL)	666 \pm 100	803 \pm 117*	738 \pm 154	701 \pm 89**

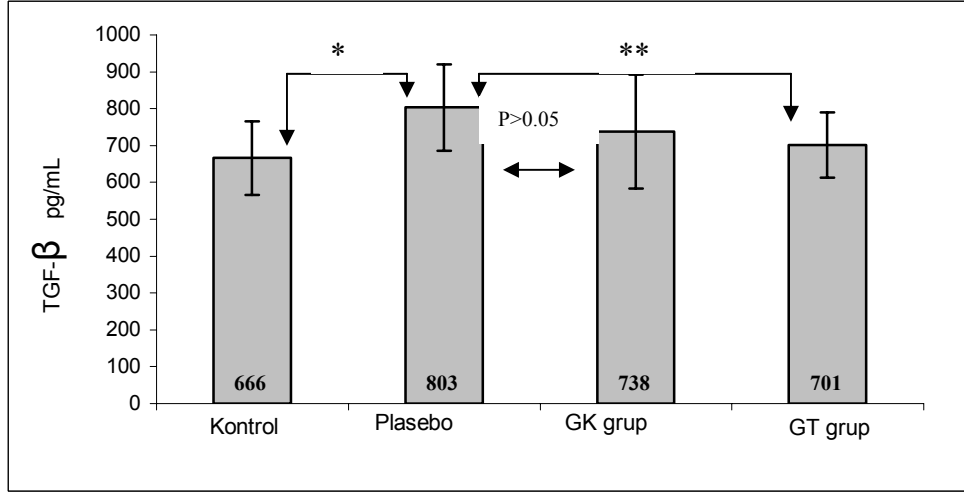
Kontrol grubu ile plasebo grubu arasında: *:P<0.05

Plasebo ile GT grubu arasında: **:p<0.05



Şekil 3. Gruplar arasında serum TNF- α değerlerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile plasebo grubu arasında: *:P<0.05



Şekil 4. Gruplar arasında serum TGF- β değerlerinin karşılaştırılması

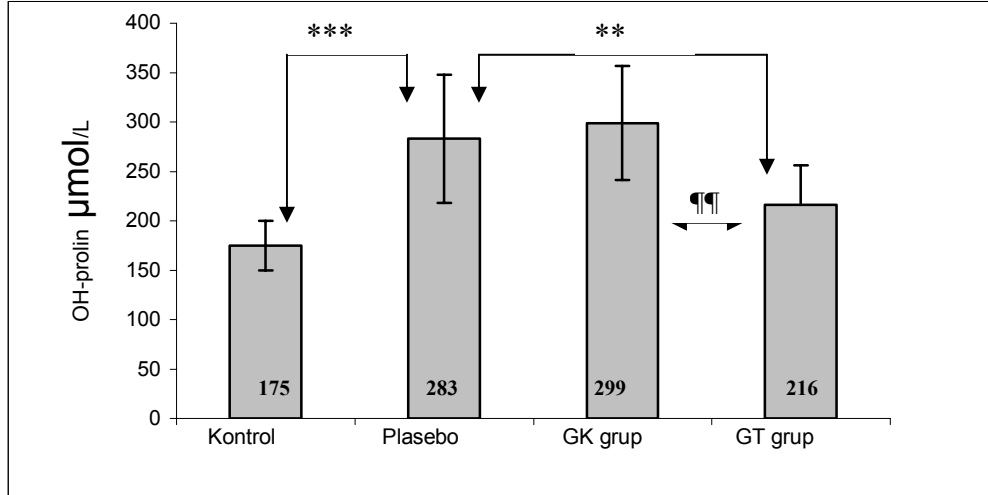
Kontrol grubu ile plasebo grubu arasında: *:P<0.05

Plasebo ile GT grubu arasında: **:p<0.05

5.3.İdrar Hidroksiprolin Düzeyleri

Hidroksiprolin değeri plasebo grubunda kontrol grubu ve GT grubuna göre yüksekti. GK grupta ise hidroksiprolin değeri plasebo grubuna göre hafifçe yükselmişti. Plasebo grubu ile kontrol grubu ve GT grubu arasındaki fark hidroksiprolin değeri açısından istatistiksel olarak anlamlıydı (sırası ile $p<0.001$, $p<0.05$). GK grup ile kontrol grubu ($p<0.05$) ve GT grup arasındaki fark da ($p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlıydı.

Pankreas doku MDA ve idrar hidroksiprolin değerleri tablo 4’de, bu değerlerin gruplar arasındaki karşılaştırılması şekil 5 ve 6’da gösterilmiştir.



Şekil 5. Gruplar arasında idrar hidroksiprolin değerlerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile plasebo grubu arasında:***: $p<0.001$

Plasebo ile GT grubu arasında: **: $p<0.05$

GT grubu ile GK grubu arasında: **: $p<0.05$

5.4.Pankreas Doku Malondialdehid (MDA) Düzeyleri

Doku MDA değeri plasebo grubunda diğer gruplara göre yüksekti. Genistein tedavi grubunda ($p<0.05$) doku MDA seviyelerinde plasebo anlamlı düşüş saptandı. Plasebo grubu

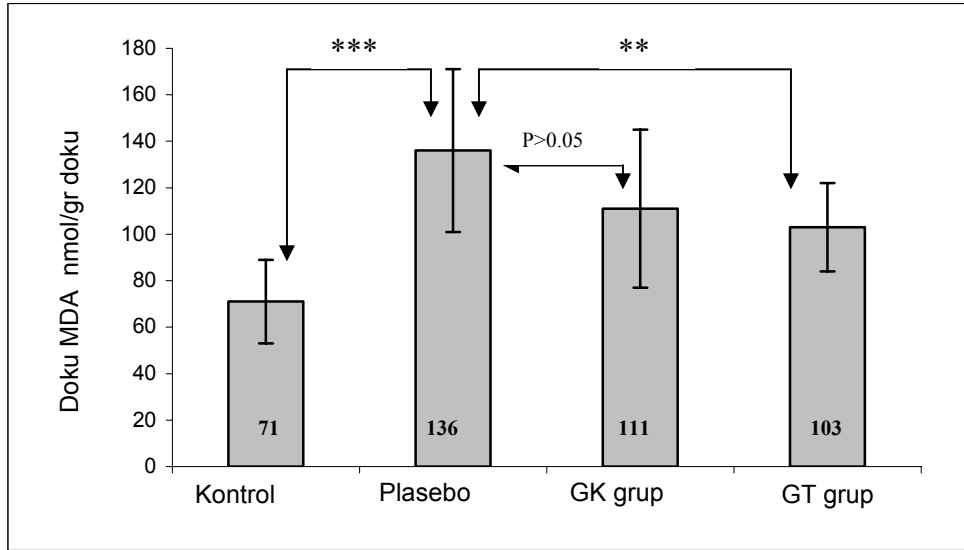
ile GK grup arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı değildi ($p=0.16$). Kontrol grubu ile GK grup ($p<0.05$) ve GT grup ($p<0.05$) arasındaki farklar da istatistiksel olarak anlamlıydı.

Tablo 4. Pankreas Doku MDA ve idrar hidroksiprolin değerleri

Parametre	Kontrol	Plasebo	GK	GT
	n=13	n=12	n=13	n=15
Doku MDA (nmol/gram doku)	71 ± 18	136 ± 35***	111 ± 34	103 ± 19**
OH-Prolin (µmol/24h)	175 ± 25	283 ± 65***	299 ± 58 ^{¶¶}	216 ± 40**

Kontrol grubu ile plasebo grubu arasında:***:p<0.001

Plasebo ile GT grubu arasında:**:p<0.05, GT grubu ile GK grubu arasında:¶¶:p<0.05



Şekil 6. Gruplar arasında pankreas Doku MDA değerlerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile plasebo grubu arasında:***:p<0.001

Plasebo ile GT grubu arasında: **:p<0.05

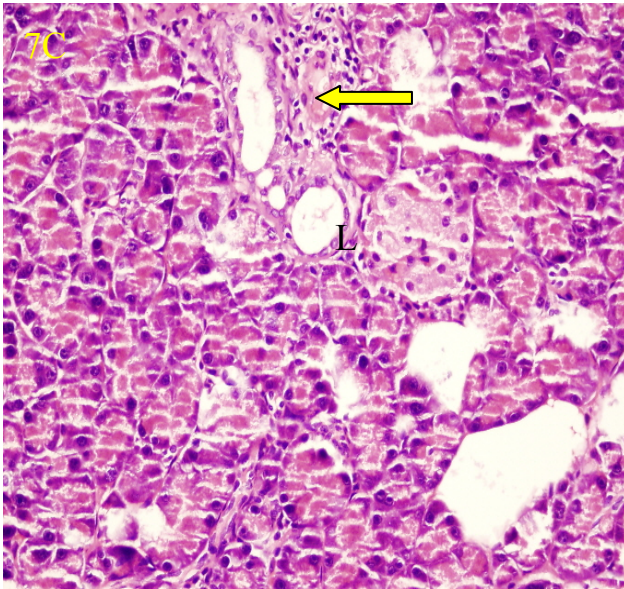
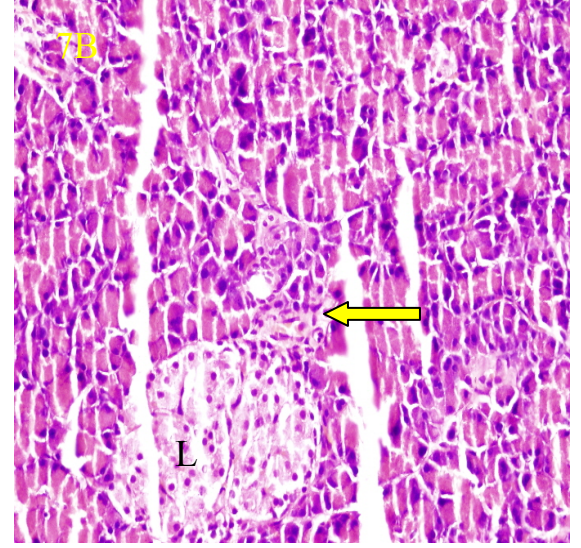
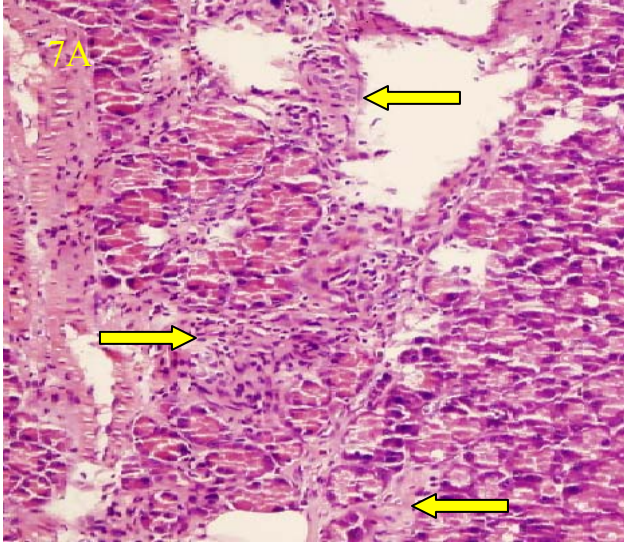
5.5.Histopatolojik Bulgular

KP tanısında altın standart pankreas biyopsisidir. Pankreas fibrozisi kronik pankreatitin en önemli histopatolojik bulgusudur. Diğer bulgular kronik inflamasyon ve asiner ve/veya duktuler atrofidir (1,5,9,22,81-84).

Plasebo grubundaki ratların %91.6'sında fibrozis oluştu (%75'inde grade 1, %16.6'sında ise grade 2 fibrozis görüldü). Kontrol grubunda fibrozis saptanmadı. GK grubunda %38.4 grade 1, GT grubunda ise %33 grade 1 fibrozis saptandı. GK ve GT gruplarında grade 2 ve üstü fibrozis saptanmadı. Genistein hem koruyucu hem de tedavi edici grupta plasebo grubuna göre, fibrozis gelişiminde anlamlı bir azalma sağladı (her ikisi için de $p < 0.05$). Grupların hiçbirinde nekroz ve asiner atrofi saptanmadı.

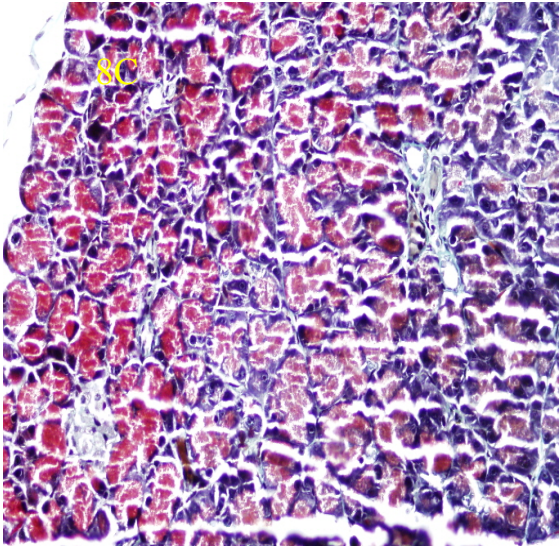
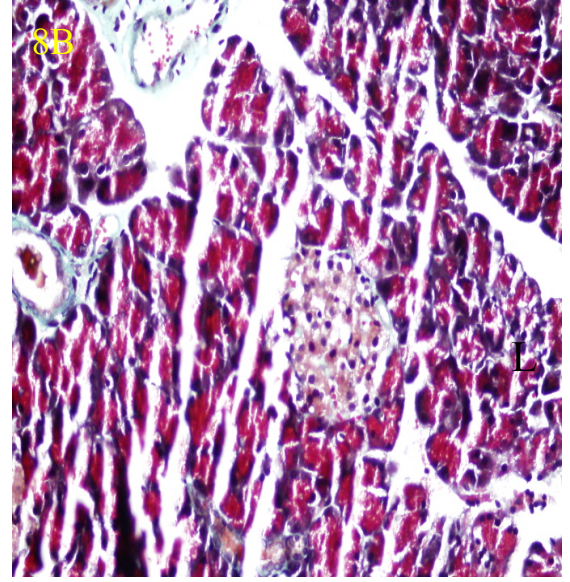
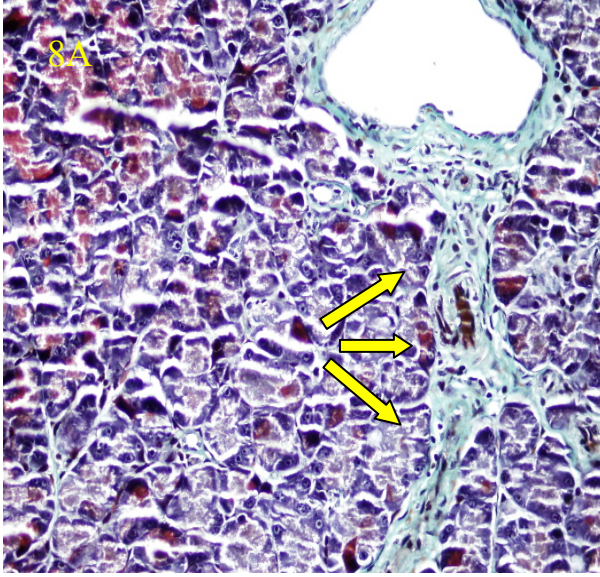
Plasebo grubunda 3(%25), GK grubunda 2(%15) ve GT grubunda 2(%13) örnekte hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Histopatolojik bulgular şekil 7 ve şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 7.Hematoksilen & Eozin, x200 büyütme.

Okla gösterilen alanlarda şekil 7A'da (plasebo grubu) fokal fibrozis alanları ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu, 7B'de (GK) minimal fibrozis alanı, 7C'de (GT) ise minimal inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmekte.



Şekil 8.Masson Trikrom, x200 büyütme.

Okla gösterilen alanlarda şekil 8A'da (plasebo grubu) fokal fibrozis alanı görülmekte, 8B (GK) ve 8C (GT)'de ise fibrozis izlenmemektedir.

7.TARTIŞMA

Kronik pankreatit artan alkol tüketimi ile birlikte özellikle batı toplumlarında önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde kronik alkol bağımlılarının %5-90'ında pankreatit gelişmektedir. Bu kişilerin %50'si hastalık başlangıcından sonra yaklaşık 20 yıl içinde ölmektedir. KP'li hastaların %4'ünde ise hastalık başlangıcından sonra 20 yıl içinde pankreas karsinomu gelişmektedir (3,144).

Bu çalışmanın asıl amacı; deneysel KP modelinde güçlü bir antioksidan olan ve TGF- β 1 aracılı kollajen sentezini azaltarak antifibrotik etki gösterdiği bildirilen (139,140) genisteinin KP gelişimi ve ilerlemesini önleyici rolünü araştırmaktır. Batı toplumlarında giderek artan bir sıklıkta görülen, çeşitli metabolik komplikasyonları ve malignite potansiyeli olan KP'in ilerlemesinin durdurulması ve tedavisi önemli bir sorundur. Ancak günümüzde KP tedavisi sadece komplikasyonlara yönelik konservatif yaklaşımlardan ve pankreas enzim replasmanından ibarettir. KP'i önlemeye ve tedavi etmeye yönelik deneysel tedavi ajanları üzerinde hala çalışılmaktadır. Bu deneysel tedavi ajanları içinde antioksidanların özel bir yeri vardır.

Neyseki hem KP patofizyolojisini anlamak hem de bu tedavi ajanlarını kullanmak amacıyla deneysel KP oluşturmak için çeşitli modeller geliştirilmiştir (93-97). Bu modeller içinden DBTC ile indüklenen KP'i seçmemizin nedenleri; 1.günden 36. haftaya kadar olan etkilerinin çeşitli çalışmalarda ortaya konmuş olması (52,53,93,143), tek doz uygulanması ve uygulama şeklinin kolay olmasıdır. DBTC bir organotin bileşiği olup biliopankreatik kanal epiteline sitotoksik etki göster. Bu etkiyi takiben epitelyal nekroz ve nekroza bağlı kanala dökülen ölü epitel artıklarının kanalı tıkaması sonucu kanal obstruksiyonu oluşur. Sonuç olarak obstruktif kronik pankreatit meydana gelir. Ayrıca DBTC'nin pankreatik hücrelere direk toksik etkisiyle intersitisyel ödem ve inflamasyon gelişir (53,94). DBTC

uygulanması sonrası 1. günde interstisyel ödem, nekroz ve lökosit infiltrasyonu oluşmakta, nekroz ilk 72 saatte, ödem 1. haftadan sonra kaybolmaktadır (143). Lökosit infiltrasyonu 7. günde zirve yapmakta, daha sonra azalmaktadır. Fibrozis ise 1. haftadan sonra görülmeye başlamakta, 4. haftada belirginleşmektedir (143). DBTC uygulaması sonrası fibrozis gelişimi için kaynaklarda belirtilen süre 28 gün olup, bizim bulgularımız da bu yöndedir. Amilaz ve lipaz seviyeleri DBTC uygulaması sonrası 3. günde en yüksek seviyeye ulaşmakta, 2. haftadan sonra normal değerlere yaklaşmaktadır. Lipazın yarı ömrü daha uzun olduğundan lipaz seviyesi daha geç düşer (144). Çalışmamızda plasebo grubunda lipaz düzeyleri beklenenden yüksek olsa da, genistein koruyucu ve tedavi edici gruplarda plasebo grubuna göre belirgin bir azalma sağlanmıştır. Bu durum akut pankreatit açısından anlamlı olmakla beraber KP'de lipaz seviyesi normal veya artmış olabilir.

Gerek deneysel gerekse klinik çalışmalardan elde edilen bulgulara göre oksidatif stres KP patogenezindeki önemli bir rol oynamaktadır. Pankreasın sistemik dolaşım veya safranin pankreatik kanala reflüsü yolu ile oksidatif strese maruz kalmasını doku hasarı ve inflamasyon takip eder. Okside ürünler lipid membranların peroksidasyonu yolu ile hücresel hasara, lizozomların ve zimojen granüllerin fragilitesinde artmaya yol açar. Bunu takiben otosindirim, mast hücre degranülasyonu, platelet agregasyonu ve son olarak inflamatuvar hasar oluşur (19,145). Braganza ve arkadaşları KP patogenezinde hepatik miks fonksiyonlu oksidazların aşırı aktivitesinin, Rose ve arkadaşları ise antioksidan eksikliğinin rolü olduğu öne sürmüşlerdir (16,146). Yapılan bir klinik çalışmada (147) KP'li hastalarda non enzimatik anti-oksidan kapasitenin belirgin derecede azaldığı, bununla korele olarak okside proteinler (protein karboniller) ve tiobarbiturik asid reaktif ürünlerinin (özellikle MDA) belirgin derecede arttığı görülmüştür (147). Ayrıca bu hastaların duodenal sıvılarında da lipid peroksidasyon belirteçlerinin arttığı saptanmıştır (18,148). Wistar-

Bonn/Kobori spontan KP rat modelinde serbest oksijen radikallerinin fibrozis gelişiminde rol oynadığı (149), başka bir çalışmada ise akut pankreatitte hastalık şiddetinin ve ilerlemesinin serbest radikaller ile doğal antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengeye bağlı olduğu gösterilmiştir (150).

Oksidatif stres PSH'in aktivasyonu, ECM sentezinin uyarılması ve ECM parçalanmasının engellenmesinde merkezi rol oynar (151). Oksidatif stres ile oluşan serbest radikaller hücrenin gereksinimi olan oksijenin %90'ının harcanmasına, çeşitli metabolik bozukluklara ve lipid peroksidasyonu olarak bilinen doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açar (152). Bazı çalışmalarda antioksidan tedavinin KP ağrısını azalttığı, hatta yüksek doz antioksidan tedavinin rat modellerinde fibrozisi azalttığı görülmüştür (20,21). İn vitro bir çalışmada ise ethanol ve asetaldehid ile inkübe edilen PSH'den lipid peroksidasyon ürünü olan MDA üretiminin arttığı, ortama Vitamin E eklendiğinde ise PSH aktivasyonunun engellendiği saptanmıştır (93). Ratlarda deneysel KP'in vitamin E ile tedavisi myofibroblast sayısında azalma ve fibrozis skorunda düzelme ile sonuçlanmıştır (122). McCarroll ve arkadaşları ise vitamin A'nın PSH'i inhibe ettiğini göstermişlerdir (121). Mas ve arkadaşları deneysel KP modelinde, bir antioksidan olan taurin ile tedavi edilen grupta MDA seviyesinde azalma ve histopatolojik skorda düzelme saptamışlardır (153). De las Heras-Castano ve arkadaşları da ratlarda pankreatik fibrozis tedavisinde antioksidan tedavinin kollajen depolanmasını engellediğini göstermişlerdir (154). Kronik pankreatitte nükleer faktör kappa B (NF-κB) aktivitesi artmaktadır. Deneysel KP fare modelinde bir antioksidan olan DA-9601 eklenmesiyle NF-κB aktivitesinin, fibrozis skorunun ve PSH'den α-SMA ve tip I kollajen sentez ve salınımının azaldığı görülmüştür. Ayrıca sitoprotektif proteinler olan ısı şok protein-70 (HSP-70) ve metallothionein seviyelerinin de DA-9601 tedavisi sonrası belirgin derecede arttığı saptanmıştır (155). RDA

(Recommended Dietary Allowance) sınırları içinde diyetle vitamin C ve selenyum ilavesi de KP'li hastalarda ağrı yakınmasını azaltmaktadır (156). Yapılan çalışmalar (20,157) antioksidan tedavinin KP'de analjezik ihtiyacını, ağrılı atak sayısı ve bu ataklara bağlı hastanede yatış süresini ve pankreas cerrahisi endikasyon sıklığını azalttığını göstermiştir (20,157).

TGF- β 1 de oksidatif stres gibi PF'de merkezi role sahiptir İnflamatuvar hücrelerin olay yerine göçü ve aktivasyonuna yardım eder, PSH'leri aktive eder. TGF- β 1 KP'te doku onarımı ve fibroziste yer alır, ESM üretimini artırır ve immün aktivasyonu baskılar (86). Aktif TGF- β 1 aşırı ekspresyonuna sahip olan transjenik fare çalışmalarında pankreas dokusunda fibroblast proliferasyonu ve ESM depolanmasının arttığı, asiner ve sentroasiner hücre proliferasyonunun inhibe olduğu gösterilmiştir. Rekombinant TGF- β 1'in tekrarlayan enjeksiyonları ile oluşturulan akut pankreatit atakları da PF'le sonuçlanmaktadır (88)

Deneysel ve klinik çalışmalar göstermektedir ki; KP oluşumu ve fibrozis patogenezinde oksidatif stres ve TGF- β 1 merkezi bir rol oynamaktadır. Bizim çalışmamızda da bu yönde bulgular elde edilmiştir.

KP patogenezinde oksidatif stresin rolünü gösteren delillerin artışı ile birlikte birçok antioksidan ajanın tedavideki rolü de araştırılmaya başlanmıştır. Antioksidanların besin kaynaklı olanları oksidatif hasara karşı korunmada oldukça önemlidir. Fitoöstrojenler, bitkilerde antioksidan görevleri bulunan, insan ve hayvanlarda östrojenik ve anti-östrojenik etkilere sahip bitkisel kaynaklı difenolik bileşiklerdir (158). Epidemiyolojik çalışmalar, soya ve izoflavonlar gibi fitoöstrojenlerden zengin olan soya ürünlerinin tüketiminin çok yönlü etkileri nedeniyle çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlı etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Birçok insan ve hayvan çalışmasında izoflavonların bu yararlı etkilerinin antioksidan aktivitelerine bağlı olduğu düşünülmüştür. İzoflavonlar hücrelerdeki oksidatif

hasardaki azalmayı antioksidan savunma mekanizmalarını uyarma gibi indirek yollarla da yapabilir (159). Birçok farmakolojik özelliklere sahip bir fitoöstrojen olan genisteinin antitümör, antioksidan ve anti-inflammatuvar etkileri olduğu bildirilmektedir (160,161). Genisteinin, oksidatif stresin en önemli belirteci olan MDA dışında, oksidatif DNA hasarının belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin oluşumunu önlediği de gösterilmiştir (162). Birçok hücrel sistemde büyümeyi önleyici etkisi de olduğu gösterilen genisteinin, hücre büyümesini TGF- β 1'in uyarı yollarını modüle ederek inhibe edebileceği öne sürülmektedir (137). Genistein antioksidan özelliklerini Fe²⁺-ADP kompleksi ile uyarılan mikrozomal lipid peroksidasyonundan koruyarak (163), bakır ve peroksil radikallerinin in vitro olarak aracılık ettiği düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu önleyerek (164) ve endotelial hücreleri aterosjenik LDL hasarından koruyarak (166) göstermektedir. Davis ve arkadaşlarının insan lenfosit kültürlerinde yaptıkları çalışmada (166) genistein TNF- α ile indüklenen NF- κ B'yi inhibe etmiştir. Böylelikle genistein, hücreleri, NF- κ B'yi inhibe ederek de oksidatif stresten korumuştur.

Tüm bu çalışmalarda görüldüğü gibi genistein KP patogenezinde anahtar rol oynayan iki faktör üzerinde de olumlu etkiler göstermektedir. Genistein KP'de daha önce kullanılmamış olmakla birlikte, PSH'e biyolojik özellikleri ve işlevleri açısından çok benzeyen ve hepatik fibrogenezde sorumlu olan hepatik stellat hücrelerin (HSH) proliferasyonunu etkilediği ve TGF- β 1 aracılı kollajen sentezini azaltarak antifibrotik etki gösterdiği bildirilmiştir (140-141).

Genistein dozu birçok çalışmada 0.2mg/kg/günden 400mg/kg/güne kadar değişmektedir (167-170). Rat çalışmalarında 0.2mg/kg/gün dozlarında kullanılmış olsa da insan çalışmalarında 20-400 mg/kg/gün gibi yüksek dozlarda, ciddi bir yan etki

gözlenmeden kullanılmıştır. Bu çalışmalardan da görüleceği üzere genisteinin terapötik marjı çok geniştir.

Bu çalışmada literatürde ilk kez, deneysel KP'de genisteinin önleyici ve tedavi edici etkilerini araştırdık. Genistein, DBTC ile oluşturulan deneysel KP modelinde histopatolojik olarak hem KP oluşumunu önlemede hem de oluşmuş değişikliklerin tedavisinde etkili bulunmuştur. Bu etki biyokimyasal belirteçlere daha belirgin bir şekilde yansımıştır. Genistein tedavisi amilaz ve lipaz düzeyini plasebo grubuna göre anlamlı ölçüde azaltmıştır. Özellikle lipaz grubunda bu etki daha da belirgin bulunmuştur. TGF- β ve oksidatif stres belirteci olan pankreas doku MDA seviyelerinde de genistein ile tedavi edilen grupta anlamlı azalmalar olmuştur. TNF- α düzeyi plasebo grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmış, GK ve GT gruplarında plasebo grubuna göre bir düşüş olsa da, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

TGF- β 1, KP'de özellikle fibrozis gelişiminde anahtar rol oynamaktadır (86-88). TGF- β 1'in en önemli kaynağı pankreatik asiner hücrelerdir. Oksidatif hasara uğrayan asiner hücrelerden salgılanan TGF- β 1 inflamatuvar hücrelerin olay yerine göçü ve aktivasyonuna yardım eder, PSH'leri aktive eder (86). Aktive olan PSH'ler periasiner bölgeye göç edip lipid damlalarını kaybeder ve fibroblast benzeri şekil alır. En çok kollajen tip 1 olmak üzere tip 3, laminin ve fibronektin üretirler (84). Bizim çalışmamızda da plasebo grubunda damar duvarı, periduktal bölgeler ve periasiner bölgelerde bağ dokusu artışı olmuştur. GK ve GT gruplarında ise damar duvarlarındaki normal değişiklikler dışında belirgin bir bağ dokusu artışı görülmemiştir. Çalışmamızda, GT grubunda plasebo grubuna göre DMDA ($p<0.001$) ve TGF- β 1 ($p<0.05$) düzeylerinin anlamlı ölçüde düşük bulunması da TGF- β 1'in anahtar rolünü desteklemektedir.

Genisteinin bu çalışmadaki muhtemel mekanizması; öncelikle oksidatif stresi azaltmış, ardından periasiner hücrelerden TGF-β1 salınımında azalma sağlamıştır. TGF-β1 salınımındaki azalma PSH'in aktivasyonunu durdurmuş ve sonuç olarak fibrozis gelişimini engellemiştir. Asiner hücrelerdeki oksidatif hasarın azalması amilaz ve lipaz seviyelerini de azaltmıştır. Çalışmada genisteinin tedavi edici etkisi koruyucu etkisine göre daha iyi görünse de GK ve GT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ayrıca genistein fibrozis gelişimini her iki grupta da anlamlı derecede azaltmıştır.

Sonuç olarak, genistein hem antioksidan etki ile pankreas MDA düzeylerini, hem de doğrudan etki ile TGF-β konsantrasyonlarını belirgin şekilde azaltmıştır. Genistein bu çok yönlü olumlu farmakolojik etkileri ile hem KP gelişimini önlemiştir, hem de biyokimyasal ve histopatolojik düzelme ile KP'de gerilemeye yol açmıştır. Bu sonuçlar umut verici olup daha uzun süreli deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

1. Etamad B, Whitcomp DC. Chronic pancreatitis: Diagnosis, classification and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001;120:682-707.
2. Mitchell RM, Byrne MF, Baillie J. Pancreatitis. *The Lancet* 2003;361:1447-1455.
3. Sterr ML. Chronic Pancreatitis. *New England J Medicine* 1995;332:1482-1490.
4. Gres T.M., Menke A., Bachem M. Role of extracellular matrix in pancreatic diseases. *Digestion* 1998;59:625-637.
5. Ellenrieder V, Schneiderhan W, Bachem M, Adler G. Fibrogenesis in the pancreas. *Annales Academiae Medicae Bialostocensis* 2004;49:40-46.
6. Bachem MG, Schneider E, Gross H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, et al. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology* 1998;115:421-432.
7. Schneider E, Schmid-Kotsas A, Zhao J, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, et al. Identification of mediators stimulating proliferation and matrix synthesis of rat pancreatic stellate cells. *American J Physiol Cell Physiol* 2001;281:532-543.
8. Schmid-Kotsas A, Gross HJ, Menke A, Weidenbach H, Adler G, Siech M, et al. Lipopolysaccharide-activated macrophages stimulate the synthesis of collagen type I and C-fibronectin in cultured pancreatic stellate cells. *American J Pathology* 1999;155:1749-1758.
9. Stevens T, Conwell DL, Zuccaro G. Pathogenesis of chronic pancreatitis: An evidence-based review of past theories and recent developments. *American J Gastroenterology* 2004;99:2256-2270.

10. Van Laethem JL, Robberecht P, Resibois A, Deviere J. Transforming growth factor β promotes development of fibrosis after repeated courses of acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1996;110:576-582.
11. Demols A, Van Laethem JL, Quertinmont E, Degraef C, Delhaye M, Geerts A, et al. Endogenous interleukin-10 modulates fibrosis and regeneration in experimental chronic pancreatitis. *American J Phys* 2002;282:1105-1112.
12. Xie MJ, Motoo Y, Su SB, Sawabu N. Expression of tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, and interferon-gamma in spontaneous chronic pancreatitis in the WBN/Kob rat. *Pancreas* 2001;22:400-408.
13. Siegel PM, Massague J. Cytostatic and apoptotic actions of TGF- β in homeostasis and cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:807-821.
14. Menke A, Yamaguchi H, Gress TM, Adler G. Extracellular matrix is reduced by inhibition of transforming growth factor β 1 in pancreatitis in the rat. *Gastroenterology* 1997;113:295-303.
15. Van Laethem JL, Deviere J, Resibois A, Rickaert F, Vertongen B, Ohtani H, et al. Localization of transforming growth factor beta 1 and its latent binding protein in human chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1995;108:1873-1881.
16. Braganza JM. Pancreatic disease: A casualty of hepatic "detoxification"? *Lancet* 1983;2:1000-1002.
17. Norton ID, Apte MV, Lux O, Haber PS, Pirola RC, Wilson JS. Chronic ethanol administration causes oxidative stress in the rat pancreas. *J Lab Clin Med* 1998;131:442-446.
18. Guyan PM, Uden S, Braganza JM. Heightened free radical activity in pancreatitis. *Free Radic Biol Med* 1990;8:347-354.

19. Haber PS, Wilson JS, Apte MV, Korsten MA, Pirola RC. Chronic ethanol consumption increases the fragility of rat pancreatic zymogen granules. *Gut* 1995;45:1474-1479.
20. De las Heras Castano G, Garcia de la Paz A, Fernandez MD, Fernandez Forcelledo JL. Use of antioxidants to treat pain in chronic pancreatitis. *Rev Esp Enferm Dig* 2000;92:375-385.
21. Atten MJ, Verma A, Liu K. Antioxidants up-regulate PPAR and decrease fibrosis in chronic pancreatitis. *American J Gastroenterology* 2003;98:A14.
22. Sidhu SS, Tandon RK. The pathogenesis of chronic pancreatitis. *Postgrad Med J* 1995;71:67-70.
23. Sharer N, Schward M, Malone G, Howarth A, Painter J, Super M, et al. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; 339:645-652.
24. Whitcomb DC. Genetic predispositions to acute and chronic pancreatitis. *Med Clin North Am* 2000;84:531-547.
25. Whitcomb DC, Gorry MC, Preston RA, Furev W, Sossenheimer MJ, Ulrich CD, et al. Hereditary pancreatitis is caused by a mutation in the cationic trypsinogen gene. *Nature Genet* 1996; 14:141-145.
26. Pfützer RH, Barmada MM, Brunskil AP, Finch R, Hart PS, Neoptolemos J, et al. SPINK1/PSTI polymorphism act as disease modifiers in familial and idiopathic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2000;119:615-623.
27. Mössner J. Epidemiology of chronic pancreatitis. Beger HG, Malfertheiner P (Ed). *Standarts in Pancreatic Surgery*. Berlin, Springer-Verlag 1993:263-271.

28. Lin Y, Tamakoshi A, Matsuno S, Takeda K, Hayakawa T, Kitagawa M, et al. Nationwide epidemiological survey of chronic pancreatitis in Japan. *J Gastroenterol* 2000;35:136–141.
29. Chari ST, Singer MV. The problem of classification and staging of chronic pancreatitis: proposal based on current knowledge and its natural history. *Scand J Gastroenterol* 1994;29:949–960.
30. Mergener K, Baillie J. Chronic pancreatitis. *Lancet* 1997;340: 1379–1385.
31. Bisceglie AM, Segal I. Cirrhosis and chronic pancreatitis in alcoholics (ed). *J Clin Gastroenterol* 1984;6:199–200.
32. Gumaste VV. Alcoholic pancreatitis: unraveling the mystery. *Gastroenterology* 1995;108:297–299.
33. Talamini G, Bassi C, Falconi M, Frulloni L, Di Francesco V, Vaona B, et al. Cigarette smoking: an independent risk factor in alcoholic pancreatitis. *Pancreas* 1996;12:131–137.
34. Talamini G, Bassi C, Falconi M, Sartori N, Salvia R, Rigo L, et al. Alcohol and smoking as risk factors in chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Dig Dis Sci* 1999;44:1301–1311.
35. Lin Y, Tamakoshi A, Hayakawa T, Ogawa M, Ohno Y. Cigarette smoking as a risk factor for chronic pancreatitis: a case-control study in Japan. Research Committee on Intractable Pancreatic Diseases. *Pancreas* 2000;21:109–114.
36. Bourliere M, Barthet M, Berthezene P, Durbec JP, Sarles H. Is tobacco a risk factor for chronic pancreatitis and alcoholic cirrhosis? *Gut* 1991;32:1392–1395.
37. Bynum TE, Solomon TE, Johnson LR, Jacobson ED. Inhibition of pancreatic secretion in man by cigarette smoking. *Gut* 1972; 13:361–365.

38. Chowdhury P, Bone RC, Louria DB, Rayford PL. Effect of cigarette smoke on human serum trypsin inhibitory capacity and antitrypsin concentration. *Am Rev Respir Dis* 1982;126:177– 179.
39. Mithofer K, Fernandez-Del Castillo C, Frick TW, Lewandrowski KB, Rattner DW, Warshaw AL. Acute hypercalcemia causes acute pancreatitis and ectopic trypsinogen activation in the rat. *Gastroenterology* 1995;109:239–246.
40. Figarella C, Amouric M, Guy-Crotte O. Proteolysis of human trypsinogen. I. Pathogenic implications in chronic pancreatitis. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;118:154–161.
41. Toskes PP. Hyperlipidemic pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1990; 19: 783
42. Pitchumoni CS, Arguello P, Agarwal N, Yoo J. Acute pancreatitis in chronic renal failure. *Am J Gastroenterol* 1996;91:2477– 2482.
43. Rutsky EA, Robards M, Van Dyke JA, Rostand SG. Acute pancreatitis in patients with end-stage renal disease without transplantation. *Arch Intern Med* 1986;146:1741–1745
44. Araki T, Ueda M, Ogawa K, Tsuji T. Histological pancreatitis in end-stage renal disease. *Int J Pancreatol* 1992;12:263–269
45. Avram MM. High prevalence of pancreatic disease in chronic renal failure. *Nephron* 1977;18:68–71.
46. Lerch MM, Hoppe-Seyler P, Gerok W. Origin and development of exocrine pancreatic insufficiency in experimental renal failure. *Gut* 1994;35:401–407.
47. Owyang C, Miller LJ, DiMagno EP, Mitchell JCD, Go VL. Pancreatic exocrine function in severe human chronic renal failure. *Gut* 1982;23:357–361.

48. Dinoso VP Jr, Murthy SN, Saris AL, Clearfield HR, Lyons P, Nickey WA, Simonian S. Gastric and pancreatic function in patients with end-stage renal disease. *J Clin Gastroenterol* 1982;4:321–324.
49. Rossi L, Whitcomb DC, Ehrlich GD, Gorry MC, Parvin S, Sattar S, et al. Lack of R117H mutation in the cationic trypsinogen gene in patients with tropical pancreatitis from Bangladesh. *Pancreas* 1998;17:278–280.
50. Ammann RW, Buhler H, Tuma J, Schneider J, Siebenmann R, Satz N. Chronic and relapsing acute pancreatitis associated with chronic renal insufficiency and analgesic (phenacetin) abuse. Observations in 4 patients. *Gastroenterol Clin Biol* 1981;5:509–514.
51. Lerch MM, Riehl J, Mann H, Nolte I, Sieberth HG, Matern S. Sonographic changes of the pancreas in chronic renal failure. *Gastrointest Radiol* 1989;14:311–314.
52. Merkord J, Weber H, Jonas L, Nizze H, Hennighausen C. The influence of ethanol on long-term effects of dibutyltin dichloride (DBTC) in pancreas and liver of rats. *Hum Exp Toxicol* 1998;17:144–150.
53. Merkord J, Jonas L, Weber H, Kroning G, Nizze H, Hennighausen G. Acute interstitial pancreatitis in rats induced by dibutyltin dichloride (DBTC): pathogenesis and natural course of lesions. *Pancreas* 1997;15:392–401.
54. Layer P, Yamamoto H, Kalthoff L, Clain JE, Bakken LJ, DiMAGno EP. The different courses of early and late-onset idiopathic and alcoholic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1994; 107:1481-1487.
55. Cohn J A, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jovell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; 339:653-658.

56. Sossenheimer MJ, Aston CE, Preston RA, Gates LK, Ulrich CD, Martin SP, et al. Clinical characteristics of hereditary pancreatitis in a large family, based on high risk haplotype. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:1113-1116.
57. Lopez MJ, Grand RJ. Hereditary and childhood disorders of the pancreas. In Feldman M, Scharsschmidt BF, Sleisenger MH (eds): *Sleisenger & Fortrand's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology/Diagnosis/Management*, 6th ed. Philadelphia, WB Saunders, 1998:782-808.
58. Lowenfels AB, Maiosonneuve P, DiMagno EP, Elitsur Y, Gates LK, Perrault J. Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis study group. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:442-446.
59. Massie RJ, Wilcken B, Van Asperen P, Dorney S, Gruca M, Wiley V, et al. Pancreatic function and extended mutation analysis in delta F508 heterozygous infants with an elevated immunoreactive trypsinogen but normal sweat electrolyte levels. *J Pediatr* 2000;137:214-220.
60. Rinderknecht H. Pancreatic secretory enzymes. In: Go VLW, DiMagno EP, Gardner JD, Lebenthal E, Reber HA, Scheele GA (eds). *The pancreas: biology, pathobiology, and disease*. 2nd ed. New York: Raven, 1993:219-251.
61. Rinderknecht H, Adham NF, Renner IG, Carmack C. A possible zymogen self-destruct mechanism preventing pancreatic autodigestion. *Int J Pancreatol* 1988;3:33-44.
62. Witt H, Luck W, Hennies HC, Classen M, Kage A, Lass U, et al. Mutations in the gene encoding the serine protease inhibitor, Kazal type 1 are associated with chronic pancreatitis. *Nat Genet* 2000;25:213-216.

63. Owyang C, Levitt M. Chronic pancreatitis. In: Yamada T (ed). Textbook of gastroenterology. Philadelphia, PA, Lippincott, 1991:1874–1893.
64. Schneider A, Suman A, Rossi L, Barmada MM, Beglinger C, Parvin S, et al. SPINK1/PSTI mutations are associated with tropical pancreatitis and type II diabetes mellitus in Bangladesh. *Gastroenterology* 2002; 123: 1026-30.
65. Hourichi A, Kawa S, Akamatsu T, Aoki Y, Mukawa K, Furuya N, et al. Characteristic pancreatic duct appearance in autoimmune chronic pancreatitis: Case report and review of the Japanese literature. *Am J Gastroenterol* 1998;93:260-263.
66. Epstein O, Chapman RW, Lake-Bakaar G, Foo AY, Rosalki SB, Sherlock S. The pancreas in primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 1982;83:1177–1182.
67. Barthet M, Hastier P, Bernard JP, Bordes G, Frederick J, Allio S, et al. Chronic pancreatitis and inflammatory bowel disease: true or coincidental association? *Am J Gastroenterol* 1999;94:2141–2148.
68. Ammann RW, Heitz PU, Kloppel G. Course of alcoholic chronic pancreatitis: a prospective clinicomorphological long-term study. *Gastroenterology* 1996;111:224-231.
69. Shiozaki M, Takeda Y, Morikavva H, et al. Role of tissue transforming growth factor-beta 1 in pancreatic fibrosis. *Gastroenterology* 1998;114:A498.
70. Mergener K, Baillie J. Chronic pancreatitis. *Lancet* 1997; 350:1379-1385.
71. Hunger RE, Mueller C, Z'graggen K, Friess H, Büchler MW. Cytotoxic cells are activated in cellular infiltrates of alcoholic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1997;112:1656-1663.

72. Delhaye M, Engelholm L, Cremer M. Pancreas divisium. Congenital anatomic variant or anomaly? *Gastroenterology* 1985;89:951-958.
73. Lankisch PG, Lohr Happe A, Otto J, Creutzfeldt W. Natural course in chronic pancreatitis. Pain, exocrine and endocrine pancreatic insufficiency and prognosis of the disease. *Digestion* 1993;54:148-155.
74. Özen Y. Kronik pankreatit. Memik F (ed). *Klinik Gastroenteroloji*. İstanbul, Nobel & Güneş, 2004;219-225.
75. İlder T. Pankreatitler. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S (editörler). *İç Hastalıkları*, 2. baskı, Ankara, Güneş kitabevi, 2003;1:1619-1626.
76. Forsmark CE. Diagnosis of chronic pancreatitis. Forsmark CE (ed). *Pancreatitis and its complications*. Totowa, New jersey, Humana Press, 2005:187-208.
77. Chowdhury RS, Forsmark CE. Pancreatic function testing. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:733-750.
78. Pongprasobchai S, Clain JE. Natural history of chronic pancreatitis. Forsmark CE (ed). *Pancreatitis and its complications*. Totowa, New jersey, Humana Press, 2005:171-186.
79. Suda K. Pathogenesis and progression of human pancreatic fibrosis. *Med electron Microsc* 2000;33:200-206.
80. Olaso E, Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrogenesis. *J Hepatol* 1998;29:836-847.
81. Klöppel G, Detlefsen S, Feyerabend B. Fibrosis of the pancreas: the initial tissue damage and the resulting pattern. *Virchows Arch* 2004;445:1-8.

82. Yokota T, Denham W, Murayama K, Pelham C, Joehl R, Bell RH. Pancreatic stellate cell activation and MMP production in experimental pancreatic fibrosis. *Journal of surgical research* 2002;104:106-111.
83. Omary MB, Lugea A, Lowe AW, Pandol SJ. The pancreatis stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases. *The J of Clin. Invest* 2007;117:50-59.
84. Haber PS, Keogh GW, Apte MV, Moran CS, Stewart NL, Crawford DH, et al. Activation of pancreatic stellate cells in human and experimental pancreatic fibrosis. *Am J Pathol* 1999;155:1087-1095.
85. Mews P, Phillips P, Fahmy R, Korsten M, Pirola R, Wilson J, et al. Pancreatic stellate cells respond to inflammatory cytokines: potential role in chronic pancreatitis. *Gut*, 2002; 50:535-541.
86. Chappell MC, Millsted A, Diz DI, Brosnihan KB, Ferrario CM. Evidence for an intrinsic angiotensin system in the canine pancreas. *J Hyperten* 1991;9:751-759.
87. Yoo BM, Yeo M, Oh TY, Choi JH, Kim WW, Kim JH, et al. Amelioration of pancreatic fibrosis in mice with defective TGF- β signaling. *Pancreas* 2005;30:71-79.
88. Vogelman R, Ruf D, Wagner M, Adler G, Menke A. Effects of fibrogenic mediators on the development of pancreatic fibrosis in a TGF- β 1 transgenic mouse model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;280:G164-G172.
89. Apte MV, Haber PS, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, Korsten MA, et al. Pancreatic stellate cells are activated by proinflammatory cytokines: implications for pancreatic fibrogenesis. *Gut* 1999;44:534-541.
90. Masamune A, Kikuta K, Satoh M, Kume K, Shimosegawa T. Differential roles of signaling pathways for proliferation and migration of rat pancreatic stellate cells. *Tohoku J Exp Med* 2003;199:69-84.

91. Apte MV, Phillips PA, Fahmy RG, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, et al. Does alcohol directly stimulate pancreatic fibrogenesis? Studies with rat pancreatic stellate cells. *Gastroenterology* 2000;118:780-794.
92. Apte MV, Wilson JS. Stellate cell activation in alcoholic pancreatitis. *Pancreas* 2003;4:316-320.
93. Sparmann G, Merkord J, Jaschke A, Nizze H, Jonas L, Löhr M, et al. Pancreatic fibrosis in experimental pancreatitis induced by dibutyltin dichloride. *Gastroenterology* 1997;112:1664–1672.
94. Jensen R.T, Lemp G.F, Gardner J.D. Interaction of cholecystokinin with specific receptors on pancreatic acina cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1980;77:2079-2083.
95. Murayama KM, Barent BL, Gruber M, Brooks A, Eliason S, Brunt EM, et al. Characterization of a novel model of pancreatic fibrosis and acinar atrophy. *J Gastrointest Surg.*1999;3:418–425.
96. Uesugi T, Froh M, Gabele E, Isayama F, Bradford BU, Ikai I, et al. Contribution of angiotensin II to alcohol-induced pancreatic fibrosis in rats. *The J of Pharm. And Experim. Therapeutics* 2004;311:921-928.
97. Puig-Divi V, Molero X, Salas A, Guarner F, Guarner L, Malagelada JR.. Induction of chronic pancreatic disease by trinitrobenzene sulfonic acid infusion into rat pancreatic ducts. *Pancreas.* 1996;13:417–424.
98. Tsuchitani M, Saegusa T, Narama I, Nishikawa T, Gonda T. A new diabetic strain of rat (Wbn/Kob). *Lab Anim.* 1985;19:200–207.
99. Belkıs Ünsal. Kronik pankreatit- tedavide amaçlar, genel tedbirler (malabsorbsiyon, diabetes mellitus tedavisi ve ağrının giderilmesi). *Güncel Gastroenteroloji* 2005;9:185-194.

100. Trapnell JE. Chronic relapsing pancreatitis: a review of 64 cases. *Br J Surg* 1979; 66:471-475.
101. Bornman PC, Marks IN, Girdwood AH, Clain JE, Narunsky L, Clain DJ, et al. Is pancreatic duct obstruction or stricture a major cause of pain in calcific pancreatitis? *Br J Surg* 1980;67: 425-428.
102. World Health Organization, Cancer pain relief and palliative care: Report on a WHO expert committee. Geneva Switzerland, World Health Organization 1990.
103. Mössner J, Wresky HP, Back T. Does feedback regulation exist in chronic pancreatitis? Beger HG, Büchler M, Ditschuneit H, Malfertheiner P (eds) *Chronic pancreatitis*. Berlin-Heidelberg, Springer, 1990:198-209.
104. Schafmayer A, Becker HD, Werner M, Fölsch UR, Creutzfeldt W. Plasma cholecystokinin levels in patients with chronic pancreatitis. *Digestion* 1985;32:136-139.
105. Gomez Cerezo J, Codocer R, Fernandez Callo P, Molina F, Tenias JM, Vazquez JJ. Basal and postprandial cholecystokinin values in chronic pancreatitis with and without abdominal pain. *Digestion* 1991;48:134-140.
106. Slaff J, Jacobson, Tillman CR, Curington C, Toskes P. Protease specific suppression of pancreatic exocrine secretion. *Gastroenterology* 1984;87:44-52.
107. Sakorafas GH, Tsiotou AG, Peros G. Mechanisms and natural history of pain in chronic pancreatitis: a surgical perspective. *J Clin Gastroenterol* 2007;41:689-99
108. McClave SA, Greene LM, Snider HL, Makk LJ, Cheadle WG, Owens NA, et al. Comparison of the safety of early enteral vs parenteral nutrition in mild acute pancreatitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1997; 21:14-20.

109. Hamvas J, Pap A. The role of jejunal feeding in the treatment of acute necrotizing pancreatitis and in recurrence of chronic pancreatitis with severe necrosis. *Orv Hetil* 1998;139: 945-949.
110. DiMagno EP, Go VLW, Summerskill WHJ. Relations between pancreatic enzyme outputs and malabsorption in severe pancreatic insufficiency. *N Engl J Med* 1973. 288: 813-815.
111. Kölbel C, Layer P, Hotz J, Goebell H. Der Einfluß eines säuregeschützten, mikroverkapselten Pankreatinpräparates auf die pankreatogene Steatorrhö. *Med Klin* 1989;81:85-86.
112. Zerega J, Lerner S, Meyer JH. Duodenal instillation of pancreatin does not abolish steatorrhea in patients with pancreatic insufficiency. *Dig Dis Sci* 1988;33:1245-1249
113. Nakamura T, Arai Y, Tando Y, Terada A, Yamada N, Tsujino M, et al. Effect of omeprazole on changes in gastric and upper small intestine pH levels in patients with chronic pancreatitis. *Clin Ther* 1995;17:448-459.
114. Durie PA, Bell L, Linton W, Corey ML, Forstner GG. Effect of cimetidine and sodium bicarbonate on pancreatic replacement therapy in cystic fibrosis. *Gut* 1980;21:778-786.
115. Vinik AI. Insulin secretion in chronic pancreatitis. Tiengo A, Alberti KGMM, Del Prato S, Vranic M (eds). *Diabetes secondary to pancreopathy*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1988:35-50.
116. Sarles H, Cros RC, Bidart JM, International Group for the study of Pancreatic Diseases. A multicenter inquiry on the etiology of pancreatic diseases. *Digestion* 1979;19:110-125.

117. Linde J, Nilsson LH, Bárány FR. Diabetes and hypoglycemia in chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1977;12:369-373.
118. Creutzfeldt W, Lankisch PG. Totale düodenopankreatektomie bei chronischer Pankreatitis. *Z Gastroenterol* 1980;18:641-643.
119. Talukdar R, Saika N, Singal DK, Tandon R. Chronic pancreatitis: Evolving paradigms. *Pancreatology* 2006;6:440-449.
120. Gomez JA, Molero X, Vaquero E, Alonso A, Salas A, Malagelada JR. Vitamin E attenuates biochemical and morphological features associated with development of chronic pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004;287:G162–G169.
121. McCarroll JA, Phillips PA, Santucci N, Pirola R, Wilson J, Apte M. Vitamin A inhibits pancreatic stellate cell activation: implications for treatment of pancreatic fibrosis. *Gut* 2006;55:79-89.
122. Woo BM, Oh TY, Kim YB, Yeo YB, Lee JS, Surh YJ, et al. Novel antioxidant ameliorates the fibrosis and inflammation of cerulein-induced chronic pancreatitis in a mouse model. *Pancreatology* 2005;5:1765–1769.
123. Galli A, Crabb DW, Ceni E, Salzano R, Mello T, Sveqliati-Baroni G, Ridolfi F, et al. Antidiabetic thiazolidinediones inhibited collagen synthesis and hepatic stellate activation in vivo and in vitro. *Gastroenterology* 2002;122:1924–1940.
124. Fu M, Zhang J, Zhu X, Myles DE, Wilson TM, Liu X, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibits transformation growth factor beta induced connective tissue growth factor expression in human aortic smooth muscle cells by interfering with Smad3. *J Biol Chem* 2001;276:45888–45894.

125. Ma LJ, Marcantoni C, Linton MF, Fazio S, Fogo AB. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist troglitazone protects against nondiabetic glomerulosclerosis in rats. *Kidney Int* 2001;59:1899–1910.
126. van Westerloo DJ, Florquin S, de Boer AM, Daalhuisen J, de Vos AF, Bruno MJ, et al: Therapeutic effects of troglitazone in experimental chronic pancreatitis in mice. *Am J Pathol* 2005;166:721–728.
127. Otsuki M, Fujii M, Nakamura T, Tani S, Okabayashi Y. Chronic oral administration of synthetic trypsin inhibitor camostatate reduces amylase release from isolated rat pancreatic acini. *Int J Pancreatol* 1995;18:135–143.
128. Wantabe S, Takeuchi T, Chey WY. Mediation of trypsin inhibitor induced pancreatic hypersecretion by secretin and cholecystokinin in rats. *Gastroenterology* 1992;102:621–662.
129. Su SB, Motoo Y, Iovanna JL, Xie MJ, Sawabu N. Effect of camostat mesilate on the expression of pancreatitis-associated protein (PAP), p8, and cytokines in rat spontaneous chronic pancreatitis. *Pancreas* 2001;23:134–140.
130. Emori Y, Mizushima T, Matsumura N, Ochi K, Tanioka H, Shirahige A, et al. Camostat, an oral trypsin inhibitor, reduces pancreatic fibrosis induced by repeated administration of a superoxide dismutase inhibitor in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:895–899.
131. Johnson MD, Woodard A, Okediji EJ, Toms SA, Allen GS. Lovastatin is a potent inhibitor of meningioma cell proliferation: evidence of mitogen associated protein kinase. *J Neurooncol* 2002;56:133–142.

132. Kusama T, Mukai M, Iwasaki T, Tatsuta M, Matsumoto Y, Akedo H, et al. 3-Hydroxy 3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors reduce human pancreatic cancer cell invasion and metastasis. *Gastroenterology* 2002;122:308–317.
133. Jaster R, Brock P, Sparmann G, Emmrich J, Liebe S. Inhibition of pancreatic stellate cell activation by the hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor lovastatin. *Biochem Pharmacol* 2003;65:1295–1303.
134. Casey PJ, Solski PA, Der CJ, Buss JE. P21 ras is modified by farnesyl isoprenoid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:8323–8327.
135. Pereda J, Sabater L, Cassinello N, Gomez-Cambronero L, Closa D, Folch-Puy E, et al. Effect of simultaneous inhibition of TNF-alpha production and xanthine oxidase in experimental acute pancreatitis: the role of mitogen activated protein kinases. *Ann Surg* 2004;240:108–116.
136. Hughes CB, Gaber LW, Mohey el-Din AB, Grewal HP, Kotb M, Mann L, et al. Inhibition of TNF alpha improves survival in an experimental model of acute pancreatitis. *Am Surg* 1996;62:8–13
137. Dixon RA, Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry* 2002;60:205-211.
138. Akiyama T, Ishida J, Nakaqawa S, Oqawara H, Watanabe S, Itoh N, et al. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 1987;262:5592-5595.
139. Kang LP, Qi LH, Zhang JP, Shi N, Zhang M, Wu TM, Chen J. Effects of genistein and quercetin on proliferation, collagen synthesis, and type I procollagen mRNA levels of rat hepatic stellate cells. *Acta Pharmacol Sin* 2001;22:793-796.

140. Liu XJ, Yang L, Mao YQ, Wang Q, Huang MH, Wang YP, Wu HB. Effects of the tyrosine protein kinase inhibitor genistein on the proliferation, activation of cultured rat hepatic stellate cells. *World J of Gastroenterology* 2002;8:739-745.
141. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
142. Bahçecioğlu IH, Yalnız M, Ataseven H, Bülbüller N, Keçeci M, Demirdağ K, et al. TNF-alpha and leptin in experimental liver fibrosis models induced by carbon tetrachloride and by common bile duct ligation. *Cell Biochem Funct.* 2004;22:359-363.
143. Otte JM, Schwenger M, Brunke G, Sparmann G, Emmrich J, Schmitz F, et al. Expression of hepatocyte growth factor, keratinocyte growth factor and their receptors in experimental chronic pancreatitis. *European J Clin Invest* 2001;31:865-875.
144. Hense S, Sparmann G, Weber H, Liebe S, Emmrich J. Immunologic characterization of acute pancreatitis in rats induced by dibutyltin dichloride (DBTC). *Pancreas* 2003;27:e6-e12.
145. Di Magno EP, Layer P, Clain JE. Chronic pancreatitis. Liang V, Go W, et al. (eds). *The Pancreas: Biology, pathobiology, and disease*, 2nd Ed. New York, Raven Press 1993:670.
146. Rose P, Fraine E, Hunt LP, Acheson DW, Braganza JM. Dietary antioxidants and chronic pancreatitis. *Hum Nutr Clin Nutr* 1986; 40:151-64.
147. Verlaan M, Roelofs HM, van Schaik A, Wanten GJ, Jansen JB, Peters WH, et al. Assessment of oxidative stress in chronic pancreatitis patients. *World J Gastroenterology* 2006;12:5705-5710.

148. Ganesh PC, Rao MN. Evidence for oxidant stress in chronic pancreatitis. *Indian J Gastroenterol* 1999;18:156-157.
149. Zeki S, Miura S, Suzuki H, Watanabe N, Adachi M, Horie Y, et al. Xanthine oxidase-derived oxygen radicals play significant roles in the development of chronic pancreatitis in WBN/Kob rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:606-616.
150. Tsai K, Wang SS, Chen TS, Kong CW, Chanq FY, Lee SD, et al. Oxidative stress: an important phenomenon with pathogenetic significance in the progression of acute pancreatitis. *Gut* 1998;42:850-855.
151. Bachem MG, Zhou Z, Zhou S, Siech M. Role of stellate cells in pancreatic fibrogenesis associated with acute and chronic pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21:92-96.
152. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner LI. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11:81-128.
153. Mas MR, Işik AT, Yamanel L, Inal V, Tasci I, Deveci S, et al. Antioxidant treatment with taurine ameliorates chronic pancreatitis in an experimental model. *Pancreas* 2006;33:77-81.
154. De las Heras-Castano G, Garcia-Unzueta MT, Dominguez-Diez A, Fernandez-Gonzales MD, Garcia-de la P AM, Mayorqa-Fernandez M, az et al. Pancreatic fibrosis in rats and its response to antioxidant treatment. *J Pancreas* 2005;6:316-324.
155. Yoo BM, Hahm KB, Koh KH, Kim JH, Cho SW, Oh TY, et al. Role of oxidative stress and effect of antioxidant on cerulein-induced pancreatic fibrosis. *Pancreatology* 2002;2:217-361.

156. Bhardwaj P, Thareja S, Prakash S, Saraya A. Micronutrient antioxidant intake in patients with chronic pancreatitis. *Trop Gastroenterol* 2004;25:69-72.
157. Uden S, Schofield D, Miller PF, Day JB, Bottiglier T, Braganza JM. Antioxidant therapy for recurrent pancreatitis: Biochemical profiles in a placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 1992;6:229-240.
158. Mitchell JR, Gardner PT, McPhail DB, Morrice PC, Collins AR, Duthie GG. Antioxidant efficacy of phytoestrogens in chemical and biological model systems. *Arch Biochem Biophys* 1998;360:142-148.
159. Cai K, Wei F. Effect of dietary genistein on antioxidant enzyme activities in SENCAR mice. *Nutr Cancer* 1996;25:1-7.
160. Goldwyn S, Lazinsky A, Wei H. Promotion of health by soy isoflavones: efficacy, benefit and safety concerns. *Drug Metabol Drug Interact* 2000;17:261-289.
161. Polkowski K, Mazurek AP. Biological properties of genistein. A review of in vitro and in vivo data. *Acta Pol Pharm* 2000;57:135-155.
162. Giles D, Wei H. Effect of structurally related flavones/isoflavones on hydrogen peroxide production and oxidative DNA damage in phorbol ester-stimulated HL-60 cells. *Nutr Cancer* 1997;29:77-82.
163. Jha HC, von Recklinghausen G, Ziliken F. Inhibition of in vitro microsomal lipid peroxidation by isoflavonoids. *Biochem Pharmacol* 1985;34:1367-1369.
164. Kerry N, Abbey M. The isoflavone genistein inhibits copper and peroxy radical mediated low density lipoprotein oxidation in vitro. *Atherosclerosis* 1998;140:341-347.
165. Kapiotis S, Hermann M, Held I, Seelos C, Ehringer H, Gmeiner BM. Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects

- endothelial cells from damage by atherogenic LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2868-2874.
166. Davis JN, Kucuk O, Djuric Z, Sarkar FH. Soy isoflavone supplementation in healthy men prevents NF-Kb activation by TNF- α in blood lymphocytes. *Free Radical Biology & Medicine* 2001;30:1293-1302.
167. Nagao T, Yoshimura S, Saito Y, Nakagomi M, Usumi K, Ono H. Reproductive effects in male and female rats of neonatal exposure to genistein. *Reprod Toxicol* 2001;15:399-411.
168. Alhasan SA, Aranha O, Sarkar FH. Genistein Elicits Pleiotropic Molecular Effects on Head and Neck Cancer Cells. *Clinical Cancer Research* 2001;7:4174-4181.
169. Nevala R, Lassila M, Finckenberg P, Pauku K, Korpela R, Vapaatalo H. Genistein treatment reduces arterial contractions by inhibiting tyrosine kinases in ovariectomized hypertensive rats. *Europ J Pharm* 2002;452:87-96.
170. Landauer MR, Srinivasan V, Seed TM. Genistein treatment protects mice from ionizing radiation injury. *Journal of Applied Toxicology* 2003;23:379-385.

8.ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Ordu'nun Kumru ilçesinde doğmuşum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Kumru'da tamamlayıp, 1994 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2000 yılında pratisyen hekim olarak Kumru'da göreve başladım. 2002 yılında bir yıl süre ile OMÜ Tıp Fakültesi Acil Tıp AD'ında araştırma görevlisi olarak çalıştım. 2002 ekim dönemi TUS sınavı sonucunda Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD'da araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım ve bu görevi sürdürmekteyim.