

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL AKUT PANKREATİT MODELİNDE
MONTELUKAST'IN ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. SERKAN ANGI**

SAMSUN-Şubat 2009

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL AKUT PANKREATİT MODELİNDE
MONTELUKAST'IN ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. SERKAN ANGI**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ALİ NAKİ ULUSOY**

SAMSUN-Şubat 2009

Asistanlığım süresince eğitimime katkılarından dolayı bilgi ve deneyimlerinden yararlanıp örnek almaya çalıştığım tüm değerli hocalarıma , tezime katkılarından dolayı başta tez danışmanım Prof. Dr. Ali Naki ULUSOY olmak üzere Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.M.Yavuz GÜLBAHAR'a, Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Murat HÖKELEK'e ve Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç. Dr. Birsen BİLGİCİ'ye, Deneysel Cerrahi Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına, asistan arkadaşım Dr.İlyas YURTSEVEN'e, eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen anne ve babama, sabır ve fedakarlığından dolayı sevgili eşime sonsuz teşekkür ve saygılarımla...

Dr. Serkan ANGI

İÇİNDEKİLER

| | <u>SAYFA</u> |
|--|--------------|
| TEŞEKKÜR | I |
| İÇİNDEKİLER | II |
| TABLO LİSTESİ | IV |
| ŞEKİL LİSTESİ | V |
| ÖZET | VI |
| ABSTRACT | VIII |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1.Akut Pankreatit | 3 |
| 2.1.1. Tanım ve Tarihçe | 3 |
| 2.1.2. Etiyoloji | 5 |
| 2.1.3.Patogenez | 9 |
| 2.1.3.1. Akut Pankreatit Patogenezi Hakkında Teoriler | 11 |
| 2.1.3.2. Akut Pankreatitte İnflamatuvar Mediatorlerin Rolü | 12 |
| 2.1.3.3. Akut Pankreatitte Sisteinil Lökotrienlerin Rolü | 12 |
| 2.1.4.Patoloji | 15 |
| 2.1.4.1.Akut Ödematöz Pankreatit | 16 |
| 2.1.4.2.Akut Nekrotizan Pankreatit | 17 |
| 2.1.5.Akut Pankreatit Tanımında Laboratuvar | 18 |
| 2.2.Deneysel Akut Pankreatit | 23 |
| 2.2.1.Deneysel Akut Pankreatit Modelleri | 23 |
| 2.2.2.Deneysel Akut Pankreatit Modellerinin Standardizasyonu | 30 |
| 2.2.3.Uygun Deneysel Model Seçimi | 30 |
| 2.3.Cerulein | 32 |
| 2.4.Montelukast | 33 |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM | 34 |
| 3.1.Çalışma Grupları | 34 |
| 3.2.Laboratuvar İncelemeleri | 36 |
| 3.3.Pankreatik Su İçeriklerinin Hesaplanması | 36 |
| 3.4.Histopatolojik İncelemeler | 37 |
| 3.5.İstatiksel Değerlendirme | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 4.BULGULAR | 40 |
| 4.1.Laboratuvar Bulgular› | 40 |
| 4.1.1. Biyokimyasal Bulgular | 40 |
| 4.1.2.Hematolojik Bulgular | 41 |
| 4.1.3.Kan Gaz› Bulgular› | 42 |
| 4.2.Pankreatik Su İçerikleri Bulguları | 43 |
| 4.3.Histopatolojik Bulgular | 44 |
| 5.TARTIŞMA | 46 |
| 6.SONUÇ VE ÖNERİLER | 53 |
| 7.KAYNAKLAR | 54 |

TABLULAR LİSTESİ

Sayfa No:

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tablo I | Pankreas enzimlerinin özellikleri ve pankreas üzerine etkileri | 10 |
| Tablo II | Çalışma Grupları ve Yapılan İşlemler | 35 |
| Tablo III | Schönberg'in pankreas skorlama indeksi | 38 |
| Tablo IV | Gruplara göre pankreatik amilaz değerleri | 40 |
| Tablo V | Gruplara göre lipaz değerleri | 40 |
| Tablo VI | Gruplara göre lökosit değerleri | 41 |
| Tablo VII | Gruplara göre hematokrit değerleri | 42 |
| Tablo VIII | Gruplara göre histopatolojik skorlar | 44 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No:

| | | |
|-----------------|--|----|
| Şekil 1 | Montelukast'ın yapısal formülü | 33 |
| Şekil 2 | Kan örneklerinin santrüfujü | 36 |
| Şekil 3 | Serumların eppendorf tüplerine alınması | 36 |
| Şekil 4 | Subkutan enjeksiyon | 39 |
| Şekil 5 | Femoral arterin kateterizasyonu | 39 |
| Şekil 6 | Orta hat kesi ile laparotomi | 39 |
| Şekil 7 | Normal pankreas dokusu | 39 |
| Şekil 8 | Akut ödematöz pankreatit | 39 |
| Şekil 9 | Hassas terazide tartım işlemi | 39 |
| Şekil 10 | Pankreatik amilaz ve lipaz ortalama değerlerinin gruplara göre grafiksel karşılaştırılması | 41 |
| Şekil 11 | Lökosit ve hematokrit ortalama değerlerinin gruplara göre grafiksel karşılaştırılması | 42 |
| Şekil 12 | Kan gazları ortalama değerlerinin gruplara göre grafiksel karşılaştırılması | 43 |
| Şekil 13 | Pankreatik su içeriklerinin gruplara göre grafiksel karşılaştırılması | 43 |
| Şekil 14 | Histopatolojik skorların gruplara göre grafiksel karşılaştırılması | 44 |
| Şekil 15 | Işık mikroskopisinde çeşitli büyütmelelerde pankreas dokuları | 45 |

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, ratlarda Cerulein ile oluşturulmuş deneysel akut pankreatit modelinde bir sisteinil lökotrien reseptör antogonisti olan Montelukast'ın etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Toplam 40 adet Sprague-Dawley türü erkek erişkin rat (Ağırlıklar 295-325 gr arasında değişen, ortalama ağırlıkları 310 gr., standart sapma: ± 2.6), her bir grupta 10 rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Cerulein (C) grubundaki 10 rata subkutan 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Cerulein (Sigma Chemical, USA) enjekte edilerek deneysel akut pankreatit indüklendi. Cerulein+erken Montelukast (CMe) grubundaki 10 rata ilk Cerulein dozundan 4 ve 8 saat önce olmak üzere 2 kere 10 mg/kg Montelukast sodyum (Bilim İlaç, İstanbul) subkutan enjekte edildi, ardından birer saat ara ile 4 kere 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Cerulein subkutan enjekte edildi. Cerulein+geç Montelukast (CMg) grubundaki 10 rata önce birer saat ara ile 4 kere 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Cerulein subkutan, ilk Cerulein dozundan 4 ve 8 saat sonra iki kere 10 mg/kg Montelukast sodyum subkutan enjekte edildi. Kontrol (K) grubuna birer saat ara ile dört kere Cerulein ile eş hacimli (0,2ml) % 0.9 luk NaCl solüsyonu subkutan enjekte edildi. Tüm ratlar ilk Cerulein enjeksiyonundan 12 saat sonra sakrifiye edildi. Sakrifikasyondan hemen önce alınan arteriyel kan örneklerinden pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, lökosit, hematokrit, pankreatik amilaz ve lipaz çalışıldı. Tamamı çıkarılan pankreas dokularının herbirinin kuyruk kesimlerinden yaklaşık 1 cm³'lik küçük birer parça alınarak pankreatik su içerikleri hesaplanmak üzere ayrıldı. Kalan pankreas dokularında histopatolojik olarak ödem, inflamasyon, vakuolizasyon ve nekroz değerlendirilerek her birine 0-4 arası skor verildi ve total histopatolojik skor hesaplandı.

Bulgular: K grubuyla C grubunun karşılaştırılmasında; pankreatik amilaz, lipaz, lökosit, hematokrit, pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, pankreatik su içeriği değerlerinin tümünde, ayrıca histopatolojik incelemede, ödem, inflamasyon, vakuolizasyon, nekroz ve total histopatolojik skor değerlerinin her birinde istatistiksel olarak anlamlı farklar ortaya çıkmıştır (p<0.05). CMg grubuyla C grubu karşılaştırıldığında değerlendirilen hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır. CMe grubuyla C grubu karşılaştırıldığında pankreatik amilaz, lipaz, pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, pankreatik su içeriği

oranlar› ve histopatolojik olarak ödem,inflamasyon ve total histopatolojik skor değerlerinin tümünde istatiksels olarak anlamlı farklar çıkmıştır.(p<0.05)Bu iki grubun karşılaştırılmasında lökosit,hematokrit,vakuolizasyon ve nekroz değerlerinde anlamlı farklar çıkmamıştır. Son olarak CMe grubuyla K grubunun karşılaştırılmasında lökosit ve pO₂ haricindeki tüm değerlerde istatiksels olarak anlamlı farklar çıkmıştır. (p<0.05)

Tartışma ve Sonuç: Birer saat ara ile 4 kere 20 µg/kg subkutan Cerulein uygulanmasıyla tüm ratlarda akut pankreatit oluşturulmuştur. Montelukast'ın Cerulein indüksiyonundan sonra verildiği grupta meydana gelen pankreatik hasarda Cerulein grubuyla karşılaştırıldığında hiçbir parametrede anlamlı fark gözlenmemiştir. Montelukast'ın Cerulein indüksiyonundan önce verildiği grupta meydana gelen pankreatik hasarda ise Cerulein grubuyla karşılaştırıldığında pekçok parametrede anlamlı farklar olmuştur (p<0.05). Bu da bize sisteinil lökotrien reseptör antagonistlerinin pankreatitin geç evresinde kullanılması›n› herhangi bir fayda sağlamayacağını, ancak erken dönemde yada profilaktik olarak kullanıldığında pankreatik hasarı azaltabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Deneysel akut pankreatit, Sisteinil lökotrienler, Cerulein, Montelukast

ABSTRACT

The Effects Of Montelukast In Experimental Acute Pancreatitis

Background: The aim of this study was to investigate the effects of ‘montelukast’, a cysteinyl leukotriene receptor antagonist, in Cerulein induced experimental acute pancreatitis model in rats.

Material and Methods: 40 male adult Sprague-Dawley rats (weight range :295-325 gr, mean weight: 310 gr, standard derivation: ± 2.6) were randomly divided into four groups each including 10 rats. In Cerulein group (C group, n=10); acute experimental pancreatitis was induced by subcutaneous injection of 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Cerulein (Sigma Chemical, USA) four times at one hour intervals. In Cerulein + Early Montelukast group (CMe group, n=10); 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Montelukast sodium (Bilim İlaç, İstanbul) was injected subcutaneously twice 8 and 4 hours before the first Cerulein injection. Then Cerulein (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$) was injected subcutaneously four times at one hour intervals. In Cerulein + Late Montelukast group (CMg group, n=10); Cerulein (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$) was injected subcutaneously four times at one hour intervals. Then Montelukast sodium (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) was injected subcutaneously twice after 4 and 8 hours from the first Cerulein injection. In Control Group (K group, n=10); 0.9 % NaCl (0.2 ml) was injected subcutaneously four times at one hour intervals. All of the rats were sacrificed after 12 hours from the first Cerulein injection. pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, leukocytes, hematocrit, pancreatic amylase and lipase were studied in the arterial blood samples taken just before the sacrifice. The pancreases were dissected and removed totally under sterile conditions. One small portion (about 1cm³) of each distal pancreas was taken for the quantification of the water contents. In the remaining pancreatic tissues; oedema, inflammation, vacuolization and necrosis were assessed as histopathologically. Then a score (0-4) was given to each of them and total histopathologic scores were evaluated.

Results: Significant differences were determined between the Group K and Group C in the parameters of pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, leukocytes, hematocrit, pancreatic amylase, lipase, the percentage of pancreatic water content, oedema,

inflammation, vacuolization, necrosis and total histopathologic scores. ($p < 0.05$). There was no significant difference in any parameters between the Group CMg and Group C. Significant differences were determined between the Group CMe and Group C in the parameters of pancreatic amylase, lipase, pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, oedema, inflammation, total histopathologic scores and the percentage of pancreatic water content. ($p < 0.05$). There was no significant difference in the parameters of leukocytes, hematocrit, vacuolization and necrosis between the Group CMe and Group C. Significant differences were determined between the Group CMe and Group K in the parameters of pH, pCO₂, HCO₃, hematocrit, pancreatic amylase, lipase, the percentage of pancreatic water content, oedema, inflammation, vacuolization, necrosis and total histopathologic scores. ($p < 0.05$). There was no significant difference in the parameters of leukocytes and pO₂ between the Group CMe and Group K.

Conclusion: Acute pancreatitis developed in all rats that were injected 20 µg/kg Cerulein subcutaneously four times at one hour intervals. There was no significant difference in any parameters between Cerulein+late Montelukast Group and Cerulein Group. Significant differences were determined between the Cerulein+Early Montelukast Group and Cerulein Group in the parameters of pancreatic amylase, lipase, pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, oedema, inflammation, total histopathologic scores and the percentage of pancreatic water content. ($p < 0.05$). These results suggest that cysteinyl leukotriene receptor antagonists might decrease the pancreatic damage if they are used in prophylaxis or in the early stage of the disease, but they have no significant benefit in pancreatic damage if they are used in the late stage of acute pancreatitis.

Keywords: Experimental acute pancreatitis, Cysteinyl leukotrienes, Montelukast, Cerulein.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Akut pankreatit; pankreasta normalde inaktif halde bulunan sindirim enzimlerinin etyolojik faktörlerle aktif hale geçerek pankreas dokularını sindirmesi ve buna karşı yaygın bir inflamasyon gelişmesiyle karakterize lokal, bölgesel ve sistemik etkileriyle komplikasyonlara yol açan klinik bir tablodur(1).

Akut pankreatit teknolojidaki tüm gelişmelere rağmen morbidite ve mortalitesi yüksek bir hastalıktır(2).Akut pankreatitli hastaların çoğunda pankreasın interstisyel ödemi ile karakterize hafif formu vardır.Bu hastalarda pankreas, ödemden dolayı boyutları artmış olarak görülür,nekroz ise sadece mikroskopik düzeyde ve hafiftir.Pankreatik veya peripankreatik belirgin nekroz gelişen hastalar ise ağır hastalardır(3,4).

Akut pankreatitin fizyopatolojisini aydınlatmak üzere yapılan birçok deneysel çalışma bize aynı zamanda geniş yelpazede birçok ajanı çalışma ve deneme fırsatı vermektedir.Deneysel modellerde safra taşları,iskemi,alkol,endotel travma ve artmış kapiller permeabilite gösterilmiş mekanizmalar arasındadır(5,6).Akut pankreatit patogenezinde rol aldığı gösterilen diğer önemli bir faktör de serbest oksijen radikalleridir(7,8).

Deneysel pankreatit modellerinde,çeşitli terapötik ajanların tedavi üzerindeki etkinliği ve bu etkinliğin ölçülmesinde kullanılabilecek parametrelerin belirlenmesi için çalışmalar devam etmektedir.Cerulein; oddi sfinkterinde gevşeme ve safra kesesinde kontraksiyonlara neden olarak pankreas kanalına safra reflüsüne ve dolayısıyla da pankreatite yol açan bir kolesistokinin analogudur(9).Cerulein ile indüklenen pankreatit,deneysel pankreatit modelleri arasında tekrar edilebilen bir metod olup,genelde en sık tercih edilen modeldir(10).Cerulein asiner hücrelerde bir takım değişikliklere sebep olmakta ve bu da çok fazla miktarda serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır(11).Oksijen kaynaklı stabil olmayan reaktif toksik metabolitler,lipid peroksidasyonu ile enzimlerin ve proteinlerin denatürasyonuna sebep olurlar(12).Cerulein intraperitoneal,intravenöz ve subkutan uygulama ile deneysel pankreatit modellerinde kullanılmıştır(13).

Akut pankreatit patogenezinde birçok inflamatuvar mediatörün rol oynadığı bilinmektedir.Sisteinil lökotrienler araziidonik asitin 5-lipooksijenaz yolağı üzerinden ortaya çıkardığı inflamasyonda önemli rol oynayan proinflamatuvar mediatörlerdir(14).Etkilerini hücre membranında yerleşmiş kendilerine özgü reseptörleri

aktive etmek suretiyle yaparlar. Daha çok mast hücresi , bazofil ve endotel hücresinden salıverilirler.Damar geçirgenliğinde artış,dokuda inflamatuvar hücre birikimi,ödeme sebep olurlar.İnflamasyonun çok önemli medyatörleridirler. Montelukast sisteinil lökotrien reseptör antagonisti olup,klinikte bronşiyal astma ve alerjik rinit gibi hastalıklarda uzunca süredir başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.Son yıllarda sisteinil lökotrien reseptör antagonistlerinin migren, kistik fibrozis, malignensi, aterosikloroz, inflamatuvar barsak hastalığı, behçet hastalığı,psöriazis,pankreatit gibi inflamatuvar proçesle giden diğer başka hastalıklarda da kullanılabileceğine ve yine böbrek ve karaciğer dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarını önlediği,midede mukoza hasarını azalttığı ve koruyucu etki yaptığı,deri flebi yaşayabilirliğini artırdığına dair pek çok klinik ve deneysel çalışma yapılmıştır ve araştırmacıların ilgisini çekmeye devam etmektedir(15)

Biz bu çalışmamızda; bir sisteinil lökotrien reseptör antogonisti olan montelukast'ın akut pankreatitte koruyucu yada tedavi edici bir etkisi olup olmayacağını, ratlarda cerulein ile oluşturacağımız deneysel akut pankreatit modeli üzerinde hematolojik,biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerle değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AKUT PANKREATİT

2.1.1. Tanım ve Tarihçe

Pankreas ve hastalıkları hekimlik mesleğinin daha çok sanatsal yönüne hitap eder ve çözümü güç olan sorunlardan biridir. Pankreatit, pankreasın inflamasyonu olup, ödemden nekroza kadar değişik şiddette patolojik değişikliklerle seyredebileceği gibi fibrozis ve bunun sonucunda geri dönüşümsüz endokrin ve ekzokrin fonksiyon bozukluğu ile sonlanabilir(16).Akut pankreatit gelişiminde en sık belirlenen nedenler safra taşları,alkolizm ve travmadır.Bunların yanı sıra duktal obstrüksiyon,bez infeksiyonları,ilaçlar,hiperlipidemi, hipertrigliseridemi ve hiperparatroidi de nedenler arasında sayılabilir.%5-7 olguda neden saptanamayabilmir. Nedenler arasında safra taşları ve kronik alkolizm tüm pankreatit vakalarının %60-80'ini kapsar.Ülkemizde safra taşları en sık nedendir.Ancak bu etkenler incelenen grubun sosyoekonomik durumuna göre değişiklik gösterir(16).Pankreasın tarihte ilk tanımlanması M.Ö. 300 lerde Herophilus tarafından yapılmıştır. Bundan yaklaşık 400 yıl kadar sonra Efes'li Refus'a kadar bu organ hakkında herhangi bir kayıta rastlanmamıştır (17).İlk kez 1579 tarihinde Pare tarafından akut ve kronik pankreatitin tanımı yapılmıştır (18). 1856 yılında Ancelet, akut pankreatit, pankreatik gangren ve pankreatik absenin patolojik tanımlamasını yapmıştır (18).Pankreatik kanala safra ve yağ asitleri enjekte edilerek deneysel pankreatit oluşturulması ilk kez 1856'da Claude Bernard tarafından gerçekleştirilmiştir. 1887'de Friedreich alkolle akut pankreatit arasındaki bağlantıya dikkat çekmiştir (19). 1889 yılında Boston'da Reginald Fitz akut pankreatit ve komplikasyonlarının patofizyolojisini yayınlamıştır,bu pankreatit hakkında İngilizce ilk yayındır (20). 1890' da Langerhans; pankreas enzimlerinin dokulardaki yağları hidrolize edip,gliserin ve yağ asitlerine ayırması ,bu yağ asitlerinin de kandaki kalsiyum ile birleşip erimeyen kalsiyum sabunlarını oluşturmasıyla gerçekleşen yağ nekrozlarına açıklık getirmiştir(16). 1901 yılında Opie safra taşları ile akut pankreatit arasındaki ilişkiyi tanımlamıştır. Ampulla, koledok ve Wirsung anatomisini ve bunların

obstrüksiyonunun pankreatite neden olduğunu göstermiştir (19). 1925’de Moynihan akut pankreatite bağlı morbidite ve mortalitenin önemini ‘‘batın içi organlara bağlı olarak meydana gelen felaketlerin en kötüsü’’ şeklinde tarif etmiştir(21).Serum amilaz düzeyi ile akut pankreatit arasındaki ilişkiyi ilk defa Elman 1929’da göstermiştir (19).Acosta ve Lodesma akut pankreatit geçiren hastaların dışkılarında safra taşlarını sık saptamaları nedeniyle safra taşı migrasyonunun ve papillada geçici tıkanmanın önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.(22) Merlin K. Duval 1954’de pankreatik kanal obstrüksiyonuna bağlı kronik pankreatit tedavisinde kaudal pankreatikojejunostomi tekniğini uygulamıştır.1958 yılında Puestow, Duval’in çalışmasını geliştirerek bir grup kronik pankreatitli hastada longitüdinal pankreatikojejunostomi yapmıştır .Charles Fry ve arkadaşları %95 distal pankreatektomi yaptıkları bir grup hastayı yayınlamışlardır. Bu hastalarda ağrı belirgin oranda gerilerken, hastaların tamamında insüline bağlı diyabet gelişmiştir(23).20.yy’ın ilk yarısında akut pankreatit tedavisinde cerrahi tedavi ön plana çıkmıştır.Akut pankreatitin tanısı bu yıllarda primer klinik bulgulara dayandığı için ağır vakalarda cerrahi tanı ve eksplorasyon uygulanmaktaydı. Bu vakaların yaşam süreleri oldukça kısa olmaktaydı. 20.yy’ın ikinci yarısında cerrahi yaklaşım terk edildi.1980’lerin ortalarında dinamik bilgisayarlı tomografi ve C-reaktif protein ile nekrotizan pankreatitin cerrahi eksplorasyon olmadan tanımlanması gerçekleşti. Bu dönemde Beger ve arkadaşları tarafından yeni bir cerrahi yaklaşım geliştirildi. Beger geniş rezeksiyondan ziyade nekrotik dokuların debritleme yöntemini sorguladı (24,25).Hereditör akut pankreatit ilk olarak 1952’de Mayo Klinik’ten Comfort ve Steinberg tarafından tanımlandı.1963’de Marsilya Sempozyumu’nda pankreatitin klinikopatolojik sınıflaması ortaya atıldı.1984’te 2. Marsilya Sempozyumu’nda bu sınıflama revize edildi.1989’dan başlayarak uzun prospektif çalışmalar yapılmaya başlandı. Ödematöz pankreatitli ve steril nekrotizan pankreatitli hastalar cerrahi dışı yöntemlerle tedavi edildi. Sadece iğne aspirasyonunda bakteri pozitif olanlar ameliyat edildi. Bu çalışmalarda pankreatik nekrozun kesin cerrahi endikasyon olmadığı anlaşıldı. Bu şekilde % 90-95 başarı elde edildi (25).

1992 Atlanta Sempozyumu’nda pankreas nekrozu, enfekte ve steril nekroz, pankreas flegmonu, pankreas absesi, pankreatik sepsis, pankreas çevresi sınırlı birikimleri, pseudokist ayrı ve özgül kavramlar olarak son bir kez tanımlanmıştır (4).

2.1.2. Etyoloji

Akut pankreatit gelişimindeki en sık nedenler; safra taşları, alkolizm, travma, geçirilmiş operasyon ve girişimlerdir. Çoğu araştırmada safra yolu hastalıkları ve kronik alkolizm, olguların % 75-90' ından sorumludur. Olguların küçük bir kısmında ise hiperkalsemi, hiperlipidemi, genetik yatkınlık gibi faktörler rol oynamaktadır (26,27)

Safra Taşları (Bilier Pankreatit): Bilier traktüs hastalıklarının pankreatite yol açma mekanizmaları bütünüyle aydınlatılmış değildir. Bilier taşlarla pankreatik kanal akımının tıkanabileceği anlaşıldıktan sonra, pankreas kanalına safra reflüsünün akut pankreatite yol açabileceği ileri sürülmüştür. Buradan geliştirilen ortak kanal teorisinde, fizyolojik mekanizma, safra taşı ile tıkanmış bir ortak kanal nedeni ile safra kanalına reflüsü esasına dayanmaktadır. Ancak opere edilen hastaların yalnızca %5-8'inde ampullada yerleşmiş bir taş saptanabilmiştir. Ayrıca anatomik çalışmalarda, safra taşının wirsung ve koledok kanallarında tıkanıklık oluşturmadan yerleşerek sadece dış akımı engellediği uygun uzunluktaki bir ortak kanal, ancak küçük bir hasta grubunda saptanabilmiştir (28,29). Pankreas salgı basıncı daima safra basıncından yüksek olup distal tıkanıklarda akımın yönü pankreastan safra yollarına doğrudur. Ayrıca son çalışmalar, safra tuzlarının pankreas enzimlerini aktive etmediğini, akut pankreatiti başlatmadığını, ancak pankreas kanalındaki mukoza bariyerini tahrip ederek, sindirim enzimleri gibi makro moleküllerin parankime difuzyonunu sağladığını ortaya koymuştur (30,31). Bilier pankreatitte öne sürülen bir başka teori, duodenal reflü teorisidir. Buna göre, ampulla vateriden geçen bir safra taşı, sfinkterde hasar yapmakta ve duodenal sıvının pankreas kanalına geçmesine neden olmaktadır. Ancak, sfinkter etkinliğini azaltan ya da yok eden operasyonlardan sonra akut pankreatit gelişiminin az olması, bu teorinin önemini azaltmıştır. Çeşitli çalışmalarda akut pankreatit geçiren olguların %80 kadarında, ilk 8 gün içinde gaitada safra taşları izole edilmiştir. Bu çalışmalar, pankreatit atağını başlatan faktörün ampulladan geçmekte olan safra taşı olduğunu kuvvetle desteklemektedir. safra kesesi içindeki taşların sayısının çok olması, taşların boyutlarının küçük olması ve sistik kanalın geniş olması, koledokta taş bulunması, koledok ile wirsung kanalları arasındaki açının geniş olması ve müşterek kanalın ortalama 5 mm'den uzun olması akut pankreatit yönünden risk faktörüdür(32).

Alkolizm (Alkolik pankreatit): Kronik alkolizm pankreatitin en önemli nedenlerindedir. Alkolün nasıl akut pankreatite yol açtığı tam olarak bilinmemektedir. Ancak pankreatitin, alkolün veya metabolitlerinden birinin direkt veya indirekt toksik etkisine bağlı oluşması olasıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde pankreatit olgularının yaklaşık %40'ında neden alkolizmdir. Hastalar tipik olarak sert likör veya şarap içen kişilerdir. Biranın daha çok içildiği ülkelerde hastalık daha az görülür. Alkolün oddi sfinkterinde spazm ve pankreatik salgıyı artırarak duktal hipertansiyona yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca pankreatik salgıda protein konsantrasyonunu artırdığı ve nidus oluşumuna yol açarak daha sonra kalsifikasyona neden olduğu da ileri sürülmektedir, inatçı kusmalar duodenal içeriğin pankreatik kanallara regürjitasyonuna sebep olabilir. Hasta içkiyi bırakırsa akut ataklar önlenebilir. Fakat kalıcı kanal tıkanıklığı ve fibrozis nedeniyle parankim yıkım› devam eder (26).

Postoperatif Pankreatit: Çok sık görülmeyen, ancak tehlikeli bir postoperatif komplikasyon olarak karşımıza çıkar. Genel insidans› bütün operasyonlarda %1'den az olup, bu oran bilier operasyonlarda %5-10'a çıkabilir. Morbidite ve mortalite oranları %25-40 olup, %50'ye kadar çıkabilir. Postoperatif dönemde hastaların üçte birinde nonspesifik bir bulgu olarak hiperamilazemi mevcuttur ve normal olarak ağrının da var olması nedeni ile tanı›da güçlükler ve gecikmeler olması mortalite oran›› artırır. Akut postoperatif pankreatitin birkaç olası nedeni vardır. Pankreas yakınında gerçekleştirilen operasyon, damarsal yapı› hasar›, direkt pankreas hasar› veya pankreas kanallar›nda tıkanma yapabilir(33,34). Bilier ağacın maniplasyonları predispozan bir faktör olarak görülürken, koledokoskopi, sfinkteroplasti veya koledokostomide de aynı insidans görülmektedir (35). Lokal enflamasyon veya enfeksiyon da rol oynayabilir. Şok, hipoksi ve peritonit pankreatite katkı›da bulunabilir ve pankreasa uzak operasyonlarda akut pankreatitin ortaya çıkması›nda önemli bir faktör olabilir (36,37).

Travma: Travmanın akut pankreatite neden olduğu bilinmektedir. Künt karın travmalarından sonra pankreatit görülme sıklığı yaklaşık %1-3 oran›nda olup bu vakalarda mortaliteyi tayin eden faktör eş zamanlı diğer karın içi organ yaralanmalarının yaygınlığıdır (32)

Hiperlipidemi: Hiperlipidemi akut pankreatit yapan sebepler içinde en sık görülen metabolik sebeptir. Trigliserid düzeyinin daha çok 1000mg/dl nin üzerinde olduğu, nadiren de 500 mg/dl nin üzerinde olduğu durumlarda görülür. Özellikle

alkolikler başta olmak üzere bazı hastalarda akut pankreatit atakları sırasında geçici hiperlipidemi ortaya çıkmaktadır. Primer hiperlipidemili bazı hastalarda da pankreatit, bu metabolik bozukluğun direkt bir sonucu olarak görülebilmektedir. Şilomikronların ve çok düşük dansiteli lipoproteinlerin arttığı bu durumlarda pankreatik lipaz tarafından çok fazla miktarda toksik yağ asidi serbestleşmekte ve pankreatik kapiller dolaşıma katılmaktadır.. Hiperlipidemi amilazın kanda saptanmasının kimyasal olarak engelleyebilir, üriner amilaz atılımı ise yüksek seyreder. Akut karın ağrısı olan her hastada serum incelenmelidir. Çünkü süte benzeyen bir görünüm hemen hemen her zaman akut pankreatite işaret eder. Primer lipid anomalilerinde diyet kontrolü, ardarda gelen pankreatit ataklarını ve diğer komplikasyonları azaltır (24). Pankreas lipazı; pankreas ve çevresinde yüksek miktarda bulunan trigliseridi serbest yağ asitlerine dönüştürür. Serbest yağ asitleri pankreas için toksik maddelerdir ve asini hücrelerini ve kapillerleri tahrip ederek akut pankreatite yol açarlar. Östrojen verilen bazı kadınlarda yada prostat kanseri nedeniyle orşiektomi yapılarak östrojen uygulanan erkeklerde yada kronik böbrek yetmezliğine bağlı oluşan hipertrigliseridemiden sonra ortaya çıkan akut pankreatitler aynı mekanizmayla izah edilebilir.

Hiperkalsemi: Hiperparatiroidi ve diğer hastalıklarda görülen hiperkalsemi zaman zaman akut pankreatite yol açabilir. Zamanla duktal kalkuluslar ve kronik pankreatit ortaya çıkar. Pankreatik sıvıdaki artmış kalsiyumun proteazların erken aktivasyonuna sebep olabileceği düşünülmektedir (24).

Ailevi Pankreatit: Bu olgularda ataklar genellikle çocuklukta başlar. Değişik derecelerde non-x dominant bir genetik defekt söz konusudur. Bu hastalardaki genetik defekt tripsinojen genindeki mutasyona bağlıdır. Çoğu hastada kalsifiye pankreatit kronikleşir ve pek çoğu ağrı nedeni ile operasyona ihtiyaç gösterirler. Ailevi pankreatitli hastalarda pankreas karsinomu daha sık görülür (24).

Protein Eksikliği: Gıdalarla protein alınımının yetersiz olduğu topluluklarda pankreatit insidansı yüksektir. Bunun nedeni çok açık değildir (16).

İlaçlara Bağlı Pankreatit: Bir takım ilaçlarla akut pankreatit gelişimi arasında düşünüldüğünden daha sıkı bir ilişki vardır. En çok suçlanan ilaçlar; kortikosteroidler, östrojen içeren kontraseptifler, azothiopirin, tiazide grubu diüretikler, furosemid, 6 - merkaptopurine, metildopa, sülfonamidler ve tetrasiklinlerdir. Östrojen kullanımıyla ilgili akut pankreatit genellikle ilaca bağlı hipertrigliserideminin bir sonucudur (24).

Obstrüktif Pankreatit: Pankreatik kanalın kronik kısmi obstrüksiyonu yaralanmaya bağlı, enflamasyona bağlı ya da konjenital olabilir. Zamanla, tıkanmış kanalın drene ettiği parenkim alanında fibröz doku gelişir ve kronik pankreatit ortaya çıkar. Benzer şekilde, bazen akut pankreatit atakları da görülebilir. Pankreas divisum obstrüktif pankreatite zemin hazırlayabilir. Pankreas divisum dorsal ve ventral pankreas segmentlerinin birleşmemesi sonucu oluşur. Bu anomali ERCP ile saptanabilir. Pankreatit epizodları geçiren bir hastada başka bir neden bulunmadığı takdirde bu anomali düşünülmelidir. Tedavi olarak minör papillada sfinkteroplasti önerilmişse de elde edilen sonuçlar optimal değildir (24). Toplumda % 8 oranında görülür. Özellikle çocuklarda akut pankreatitin önemli bir sebebidir.

Peptik Ülser: Peptik ülserin beze penetre olması sonucu, hiperamilazemi ve şiddetli lokalize ağrı ile seyreden çok sayıda akut pankreatit olgusu bildirilmiştir. Burada tablo ciddi ve jeneralize olmayıp, peptik ülserin tedavisi, pankreatit ataklarının tekrarını önlemektedir (28).

Vasküler, Enfeksiyöz, Toksik ve Alerjik Faktörler : Akut pankreatitin ortaya çıkmasında vasküler tıkanıklık veya spazm da bir faktör olarak ileri sürülmüştür. Damarların ligasyonu ile deneysel olarak pankreatit meydana getirilmiştir. Kanal yolu ile duodenum veya safra yollarından enfeksiyon gelme olasılığı olmakla beraber, hematogen veya lenfatik yolla da taşınma mümkün olabilir. Ayrıca civardaki organların enfeksiyonunun da temas yolu ile pankreasa atlayabileceği düşünülebilir. Metil alkol, çinko oksit, klorothiazid gibi toksik maddeler, pankreas hasarına yol açabilir. Ayrıca pankreatit patogenezinde otoimmün mekanizmaların da rolü olduğu ileri sürülmüştür. Kabakulak esnasında pankreatit görülebilmektedir. Enfeksiyöz mononükleoz ve askariasis de etyolojik faktörler arasındadır. Cocksackie-B virüsü, hepatit virüsleri, salmonella grubu bakteriler, streptokoklar, sfiliz, bakteriyel gıda zehirlenmeleri, kronik böbrek hastalıkları ve üremi, damar hastalıkları (periarteritis nodoza, arterioskleroz, malign hipertansiyon), obstrüktif kolon divertikülleri, dissekan aort anevrizması, orak hücreli anemi, diabet koması, pankreas kanseri, SLE, karsinoid sendrom, mide kanseri, zehirli böcek ve akrep sokmaları, renal transplantasyon, karbonmonoksit zehirlenmesi, hipotermi ve elektrik şoku da etyolojide yer almaktadır.

İdiopatik pankreatit: İdiopatik pankreatit, olguların yaklaşık %15'ini içerir, bilier ve alkolik pankreatitlerden sonra üçüncü büyük grubu oluşturur. Bu olgularda pankreatite yol açabilecek herhangi bir etken saptanamaz (24).Yapılmış iki prospektif çalışmaya göre idiopatik pankreatitli hastalarda %67-%74 mikrolithiazis bulunmaktadır.Lee ve arkadaşları idiopatik pankreatitli 31 hastanın 23'ünde ,Ross ve arkadaşları ise 51 hastadan 34'ünde ultrasonografik mikrolithiazis tespit ettiler.Bu hastaların tümünde ilk yatış esnasında ultrasonografileri negatifti. İdiopatik pankreatitli hastaların bir diğer grubunu ise oddi sfinkter disfonksiyonlu hastalar oluşturmaktadırlar.İdiopatik rekürren pankreatitlerde büyük oranda manometrik anormallikler saptanmıştır.

2.1.3. Patogenez

Akut pankreatit, patogenezini halen kesin olarak aydınlatılamamıştır. Günümüzde en çok kabul gören görüş, pankreas içindeki inaktif proenzimlerin, aktif hale geçmeleri ve bezin kendi kendini sindirmesi olayıdır. Bu enzimler ya doğrudan beze zarar verirler ya da oluşturdukları inflamatuvar olayın sistemik yansımaları sonucunda şoka, respiratuvar distrese, böbrek yetmezliğine, kardiyak aritmilere ve ölüme neden olurlar (29). Pankreas enzimlerinin özellikleri ve pankreas üzerine etkileri Tablo I'de gösterilmiştir. Daha önce sunulan etyolojik nedenler ile hücre metabolizması düzeyinde meydana gelen zimojenlerin uygunsuz aktivasyonu pankreas asiner hücrelerinde hasar meydana getirirler. Tripsin tripsinojenden intraasiner seviyede aktifleşerek pankreatit patogenezinde pek çok olayın başlamasına yol açar ve basit interstisyel ödemden şiddetli nekroz, multiorgan yetmezliği, ve şoka kadar değişen bir tablo meydana gelebilir Kallikrein - bradikinin sisteminin aktif hale geçmesi sonucu damar permeabilitesinde artış, vazodilatasyon ve lökosit toplanması oluşur. Bu vazoaaktif peptidlerin dolaşımında artması sonucu hipotansiyon ve şok meydana gelir. Yine tripsinin aktifleştirdiği proteolitik enzim olan elastaz, kan damarlarındaki elastik lifleri parçalayarak kanama ve ödeme neden olur.Fosfolipaz A'nın aktifleşmesi hücre duvarlarını tahrip ederek pankreas parankiminde nekroza neden olur. Dolaşıma karışan fosfolipaz A ve toksik etkili çeşitli hücre zararlı maddeleri, akciğerlerde surfaktan

hasarı oluşturarak, pankreatit olgularında ‘erişkinin solunum sıkıntısı sendromuna’ neden olur . Lipaz diğer enzimlerden farklı olarak asiner hücrelerde üretilir ve etkinlik gösterebilmesi için fosfolipaz A gibi ortamda safra asitlerinin varlığına ihtiyaç duyar.Yağ nekrozunun nedeni pankreasın kendi kendini sindirmesidir.Tripsinin aktif forma nasıl geçtiği bilinmemektedir.Yapılan hayvan çalışmalarında oluşturulan pankreatitlerde tripsin duodenal enterokinaza ihtiyaç duymadan aktif hale geçmiştir ancak hangi mekanizma ile aktif forma döndüğü açık değildir (22)

Tablo I: Pankreas enzimlerinin özellikleri ve pankreas üzerine etkileri

| Enzim | Aktivasyon Yolu | Biyokimyasal Etkiler | Pankreastaki Patolojiler |
|--------------|-------------------------------------|---|--|
| Tripsin | Enterokinaz Otojen Katepsin B | Proteolizis Proenzimlerin aktivasyonu | Ödem Likefaksiyon Nekroz Kanama |
| Kimotripsin | Tripsin | Proteolizis | Ödem Kanama |
| Elastaz | Tripsin | Elastolizis | Kanama |
| Kallikrein | Tripsin | Kinin açığa çıkması | Ödem |
| Fosfolipaz | Tripsin | Lipofosfolipid oluşumu | Nekroz |
| Lipaz | Safra asitleri | Trigliseridlerin | Nekroz |

2.1.3.1.Akut Pankreatit Patogenezi Hakkında Teoriler

Ortak Kanal Teorisi: Safra yolu taşının Vater ampullasını tıkayarak pankreatik kanalda safra reflüsüne neden olduğu öne sürülmektedir. İnfekte safra; dekonjuge safra tuzları ve lesitini içinde barındırır. Pankreatik sıvıda bulunan fosfolipaz A lesitini izolesitine çevirir. Pankreatik hasarı altında bu mekanizmanın yattığı savunulmaktadır (17). Akut pankreatit geçirmiş hastaların radyolojik incelemelerinde %52-67 oranında, safranını pankreas kanalına geçtiğinin gösterilmiş olması bu teoriyi desteklemektedir.

Obstrüksiyon - Sekresyon Teorisi: Hayvanlarda deneysel olarak pankreatik kanalın tam obstrüksiyonu ödematöz pankreatite yol açmaktadır. Kısmi obstrüksiyon da pankreatik hipersekresyona yol açarak ağır pankreatit oluşturmaktadır. Bu teori daha çok biliyer ve alkolik pankreatitin oluş mekanizmasını açıklar (17)

Duodenal Reflü Teorisi: Deneysel olarak hayvanlarda, duodenal içeriğin ampulla Vateri'den pankreatik kanal reflüsünün pankreatit oluşturduğu gözlenmiştir. Duodenum içi basıncın arttığı durumlarda Oddi sfinkterinde de yetersizlik mevcutsa aktif enzimler pankreas kanalını geçerek akut pankreatit oluşturabilirler. Bunun klinikteki örneği subtotal gastrektomi ve Billroth II tipi ameliyat geçirmiş hastalarda, postoperatif dönemde görülen akut pankreatitlerdir (17).

Pankreatik Kanal Permeabilite Artışı: Serbest oksijen radikalleri üreten bazı maddelerin, pankreatik kanalın geçirgenliğini arttırarak pankreatite yol açtıkları saptanmıştır(45). Akut pankreatitte multisistemik toksik bir tablo vardır. Hastaların % 20'sinde pulmoner, kardiyovasküler ve renal disfonksiyon başta olmak üzere pankreatik komplikasyonlar gelişir. Sıvı elektrolit değişiklikleri, damar içi volümde (özellikle plazma) azalmaya bağlanmıştır. Akut pankreatitin başlamasıyla birlikte, pankreasın çevresine ve retroperitoneal mesafeye sıvı sekestrasyonu oluşur(4, 18).

Enzim Otoaktivasyonu : Normalde inaktif halde salgılanan duodenumda enterokinaz sayesinde aktif hale geçen tripsin herhangi bir sebeple pankreas içinde aktif hale gelir ve diğer pankreas enzimlerini de aktiflerse pankreatit süreci başlamış olur. Bu pankreas içi aktivasyonda alkolizm, safra ve duodenal içerik reflülerinin rol aldığı düşünülmektedir.

2.1.3.2. Akut Pankreatitte İnflamatuvar Mediatörlerin Rolü

Son zamanlarda akut pankreatitin patogenezi çeşitli hayvan deneylerinde oluşturulan pankreatit olgularında hücresele düzeyde araştırılmıştır. Mast hücrelerinin vasküler permeabilite artışı ve lökosit birikimi ile karakterize enflamatuvar cevabın başlamasında santral rol oynadığı tespit edilmiştir. Akut pankreatitin indüksiyonundan sonra aktive olan mast hücreleri pankreas ve pankreas dışı organ ve dokularda, özellikle de akciğer ve kolonda endotelial bariyerin disfonksiyonuna neden olur. Akut akciğer yetmezliği, pankreatik sepsis, multiple organ disfonksiyonu gibi mortaliteye neden olan klinik tablolar, enterik endotel disfonksiyon ve permeabilite artışı sonucu oluşan bakteriyel translokasyon ile ilişkilidir. Bu fizyopatolojik değişime aktive olan mast hücrelerinden salınan sitokinler, histamin, serotonin, platelet aktive edici faktör, lökotrienler, oksijen radikalleri ve diğer mediatörler neden olmaktadır. Ortaya çıkan bu mediatörler mikrovasküler hasar oluşturarak dokuda hipoksi ve anoksi meydana getirirler ve neticesinde pankreatik nekroz gelişir. Aktive olmuş pankreatik makrofajlardan öncelikle tümör nekrozis faktör α salgılanır. Tümör nekrozis faktör α 'nın etkisi ile daha sonra interlökin-1 ve interlökin-6 salgılanır. Bunlarda sistemik yanıtta anahtar rol oynarlar. Interlökin-10 ve indüklenebilir nitrik oksit (INOS) ise oluşan mikrovasküler hasara karşı koruyucu rol oynarlar.

2.1.3.3. Akut Pankreatitte Sisteinil Lökotrienlerin Rolü

Lökotrienlerin inflamatuvar cevapta oynadıkları roller artık çok kesin olarak bilinmektedir ve antilökotrienlere olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Lökotrienler araşidonik asitten 5-lipooksigenaz yoluyla sentezlenen etkin biyolojik medyatörlerdir. Güçlü kemotaksi, kemokinezis (migrasyon), agregasyon yapıcı etkileri vardır. Vazokonstriksiyon, bronkokonstrüksiyon ve kapiller permeabilite artışına sebep olurlar. Postkapiller venüllerden plazma sızması dokuya sızmasına ve ödeme neden olurlar. Bu etkilerini hücre membranında yerleşmiş kendilerine özgü reseptörleri aktive etmek suretiyle yaparlar(89). Kimyasal yapılarına göre iki gruba ayrılırlar. Bunlar sülfür bağı olanlar ve olmayanlardır. LTB₄ de sülfür bağı değilken LTC₄, LTD₄, LTE₄ de sülfür bağıdır ve sisteinil lökotrienler yada sülfüdo(kükürtlü) lökotrienler olarak adlandırılırlar. Sisteinil lökotrienler daha çok mast hücresi bazofil ve endotel

hücrelerinden salıverilirler. Damar geçirgenliğinde artış, dokuda inflamatuvar hücre birikimi, ödeme sebep olurlar. İnflamasyonun çok önemli medyatörleridirler(90).

Normalde pankreastan inaktif halde salıdıktan sonra duodenal entorokinaz ile karşılaşan tripsinojen aktif tripsin şekline gelir ve diğer pankreatik sindirim enzimleri ve hidrolazları aktive eder. Akut pankreatit sürecinde ise çeşitli etyolojik faktörlerin etkisiyle inaktif tripsinojen pankreasta intraasiner seviyede aktif tripsin formuna dönüşür ve diğer pankreatik sindirim enzimleri ve hidrolazları aktif hale getirir. Fosfolipaz A₂'de tripsinin intraasiner düzeyde aktive ettiği enzimlerden birisidir. Bu patolojik süreçte aktive olan fosfolipaz A₂ membran fosfolipidlerinden araşidonik asidi sentezler. Araşidonik asit metabolizmasını stimüle eden bir diğer faktör de asiner hücre hasarı sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleridir. Serbestleşen araşidonik asitten iki farklı metabolik yol ve enzimatik aktivite ile genel anlamda eikosanoidler olarak bilinen farklı farmakolojik etkileri bulunan aktif moleküller oluşur. Eikosanoidler arasında bulunan ve prostanooidler olarak tanımlanan prostaglandinler (PG) ve tromboksan A₂ (TxA₂) sentezi siklooksijenaz (COX) yolu ile oluşurken, lökotrienler 5-lipoksijenaz (5-LO) enziminin başlattığı metabolik süreç ile sentezlenir. Lökotrienlerin sentezi sırasında öncelikle 5-lipoksijenazın kalsiyum ve ATP bağımlı süreç ile stazolden hücre membranına translokasyonu ile bir nükleer membran proteini olan FLAP (5-LO aktive edici protein) varlığında aktivasyonu söz konusudur. Aktive 5-LO hücre membranında iki ayrı katalitik aktivite ile araşidonik asitten önce çok kısa yaralanma süresine sahip unstabil bir ara molekül olan 5-HPETE (5-hidroperoksieikosatetraenoik asit) oluşumu ve daha sonra 5-HPETE'nin epoksi lökotrien A₄'e dönüşümünde rol oynar. Lökotrien A₄ bütün lökotrienlerin sentezinde ortak ara basamak olup LTA₄ hidrolaz aracılığı ile LTB₄'e yada glutatyon-S-transferaz sınıfında bir enzim olan LTC₄ sentetaz aktivitesi altında glutatyon ile konjuge olarak sisteinil (peptido) lökotrien LTC₄'e metabolize olur. Oluşna LTC₄ extraselüler ortama taşınarak burada γ-glutamil transpeptidaz tarafından sisteinil glisinil derivesi LTD₄'e dönüştürülür. LTD₄'ten ise dipeptidaz aktivitesi ile sisteinil derivesi olan LTE₄ oluşur. LTC₄ ile birlikte metabolitleri olan LTD₄ ve LTE₄ topluca sisteinil lökotrienler yada peptido lökotrienler olarak tanımlanırlar. Lökotrienlerin mast hücreleri, bazofiller, eozinofiller, makrofajlar, nötrofiller, trombositler, lenfositler, eritrositler tarafından sentezlenebildiği bilinmektedir. Sisteinil lökotrienler histamine göre 10-1000 kat daha

kuvvetli olarak mikrovasküler permeabilite artışı yoluyla damar dışına hücre göçünü kolaylaştırarak ve plazma sızıntısına neden olarak ödeme ve inflamasyonun yoğunlaşmasına katkıda bulunurlar. Sisteinil lökotrienler bu etkilerini hücre membranında yerleşmiş olan kendilerine özgü LT_1 reseptörlerini aktive etmek suretiyle gerçekleştirirler. Sisteinil lökotrienlerin bu etkileri akut pankreatiti lokal bir doku hasarı olmaktan çıkarıp şiddetli sistemik bir inflamatuvar sürece sürükler. Sisteinil lökotrien reseptör antagonistleri ilaçlar kompetitif etki ile LT_1 reseptörlerini bloke ederek, lökotrienlerin inflamasyondaki etkilerini engeller(90). Sisteinil lökotrienlerin vücudun çeşitli bölgelerindeki inflamatuvar süreçle giden pek çok hastalıkta da rol oynadığı bilinmektedir. Sisteinil lökotrien reseptör antagonistlerinin böbrek ve karaciğer dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarını önlediği, inflamatuvar barsak hastalığında inflamasyonu baskıladığı, midede mukoza hasarını azalttığı ve koruyucu etki yaptığı, deri flebi yaşayabilirliğini arttırdığı, pulmoner fibrozisi engellediği, psoriasisdeki inflamasyonu azalttığı, behçet artritinde inflamasyonu baskıladığı, migren ve aterosiklorozda antiinflamatuvar etki yaptığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(88,89). Lökotrienlerin akut pankreatit patogenezinde oynadığı roller klinik ve deneysel çalışmalarla da doğrulanmıştır. Hotter ve arkadaşları lökotrien infüzyonu uyguladıkları ratların pankreaslarında ödemin ve polimorfonükleer infiltrasyonun arttığını hemotoksilen eosin ile boyalı preparatlarda göstermişlerdir(104). Folch ve arkadaşları deneysel akut pankreatit modelinde lökotrienlerin arttığını göstermişlerdir(105). Hirano T. bir sisteinil lökotrien reseptör antagonistisi olan Pranlukast'ın ratlarda pankreatik ödemi azalttığını bildirmiştir(103).

2.1.4. Patoloji

Akut pankreatitte patolojik bulgular her olguda değişik olabilir. Bazen de bezin farklı bölgelerinde değişik bulgular elde edilebilir. Sık görülen patolojik olaylar ödem, yağ nekrozu, kanama, parankim nekrozu ve süpürasyondur.

Ödem: Akut pankreatit ödeminde bezin herhangi bir segmenti hastalanabilir. Bu genellikle baş kısmıdır. Ödem çoğunlukla peripankreatik dokulara da yayılarak, bezin sınırların belirgin görüntüsünün kaybolmasına neden olabilir.

Yağ Nekrozu: Beyaz opak plaklar halindeki yağ nekrozu, pankreasın yüzeyinde , mezenterde, parietal ve visseral periton üzerinde ve nadiren plevra ve perikardda görülür. Pankreas lipazının etkisi ile yağlar, yağ asitleri ve gliserine ayrılırlar. Yağ asitleri, kalsiyum ile birleşerek erimeyen sabunları oluştururlar.

Kanama: Akut pankreatitte parankimal hemorajik lezyonların meydana gelmesi hakkında iki ayrı fikir vardır. Bir damar felcine sekonder olarak, pankreas dokusunun yırtılmasına bağlı olduğunu kabul edenlerin yanısıra, damardaki lezyonun median nekrozu ile başladığını ileri sürenler de vardır. Nekroz olmadan hemorajik lezyonlar görülmediğinden nekroz kanamanın öncülüdür denebilir. Pankreas nekrozundaki kanama iki bulgunun nedenidir. Bunlardan birisi, periton boşluğundaki koyu renkli, kanlı sıvıdır. Diğeri ise, periumblikal bölgede ve karnın yan taraflarındaki renk değişiklikleridir.

Nekroz: Ödem ve kanama ile birlikte bulunan pankreatik nekroz, doku kaybı ve parçalanması ile kendini gösterir. Yumuşak ve gangrenli kısımlar aslında pankreas dokusundan ayrılır. Nekrozun geniş ve yaygın olması şart değildir ve çoğunlukla küçük noktalar halinde bulunur.

Süpürasyon: Akut pankreatitin bir komplikasyonu olarak kabul edilir. Süpüre pankreatit oldukça nadirdir (26).

Çok erken evrelerde yalnızca interstisiyel bir ödem vardır. Bunu pankreas parenkiminin endokrin ve ekzokrin hücrelerinde fokal ya da oldukça yaygın nekroz alanları izler. Olaya katılan hücreler bulanık bir görünüm alır ve daha sonra granüler koagülatif bir nekroza uğrarlar. Bütün bu değişikliklerle birlikte giden nötrofilik yangısal yanıt, genelde nekrotik odakların kenarlarında toplanmıştır. Daha sonraki evrelerde ortaya çıkan arter ve arteriollerin nekrozu, hemorajiye yol açar. Akut pankreatik nekrozun kendine özgü histolojik değişikliği, stromal ve peripankreatik yağ depolarında ortaya çıkan fokal yağ nekrozu alanlarıdır denebilir. Genellikle 3-4 gün sonra sekonder bakteriyel bir yayılma ortaya çıkar. Bu da pek çok sahada süpüratif nekroz odaklarının ya da abse yapılarının oluşmasına yol açar. Pankreatik nekroz için karakteristik olan görünüm değişir. Eğer hasta yaşarsa, akut nekrotizan yıkım yavaş yavaş rezolüsyona uğrar ve bunun yerini diffüz ya da fokal, parenkimal veya stromal fibrozis, kalsifikasyon ve düzensiz duktal dilatasyonlar alır. Zamanla, nekrotik alanların hacim ve sayılarında azalma olur, nekrotik alanların yerini fibröz bağ dokusu alır. Bazen likefiye alanlar fibröz doku ile kuşatılır ve böylece küçük ya da büyük kistik alanlar oluşur. Bunlar pseudokist olarak adlandırılırlar. Kistik yapılar, mikroskopik olarak kronik yangısal bir granülasyon dokusundan oluşmuştur. Lümeni döşeyen bir epitel söz konusu değildir. Kist lümeninde bulanık, pas renginde bir sıvı bulunur (38). Akut pankreatite neden olan olay ne olursa olsun tablo aynıdır. Patolojik olaylar tanımlanırken iki gruba ayrılarak incelenmektedir:

2.1.4.1. Akut Ödematöz Pankreatit

Makroskopik olarak, gland büyük, çevredeki mezenter ve omentumda beyazms gri renkli, sertçe yağ nekrozu alanları dikkati çeker. Ancak ödematöz pankreatitte yağ nekrozu fazla değildir ve çok defa mikroskopik düzeyde kalır. Genellikle karın içinde açık pembe renkli bir sıvı vardır. Nekroz görülmez. Mikroskopik olarak pankreas lobülleri cam gibi bir görünüm almıştır ve içleri inflamatuvar hücrelerle, özellikle PNL ile doludur. Asiner hücreler genellikle bozulmamıştır. Ultrastrüktürel incelemede asiner hücrelerinin lümen kenarındaki mikrovillilerin kaybolduğu, endoplazmik retikulum ve mitokondrilerinin bozulduğu görülür. Enzimleri depolayan zimojen granülleri membranları sağlam olup büyüklük ve dansiteleri normaldir. Kapiller ve lenfatikler genişlemiş olabilir, ancak tromboz görülmez.

2.1.4.2. Akut Nekrotizan Pankreatit

Makroskopik olarak gland şişmiş ve büyümüştür. Retroperitoneal alanda, duodenum, kolon ve mide gibi komşu organlarda belirgin ödem vardır. Karın üst bölümünde yaygın yağ nekrozları saptanır. Pankreatitin ağırlığı ile pankreas boşluğunda kirli kahverengimsiyah renkli bir sıvı bulunur. Retroperitoneal bölgede, ağır olgularda kolon mezosunda ve dalak pedikülünde kanamalar saptanır. Mikroskopik olarak pankreasın tümü nekroze olabileceği gibi, yer yer normal ve nekroze pankreas yanyana da görülebilir. Nekroz için sabit bir bulgu, asini lobüllerini bekleyen kapiller arteriol ve venüllerdeki tıkanmalardır. Prelobüler damarların tıkanmaları, nekroz için tipiktir. Nekroz alanlarının yanında, ödemli, mononükleer infiltrasyon alanları da görülür (19,39-43).

2.1.5. Akut Pankreatit Tanısında Labaratuvar

Amilaz ve pankreatik izoamilaz: Serum amilazının yüksek değerlerinin pankreatite eşlik ettiği, tanı koydurucu bir test olarak kullanılabilceği ilk kez 1929'da Elman ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Genellikle 100 mililitrede en az 500 somogy ünitesine kadar yükselir. Bu değerin 1000 üniteye ulaşması tanıyı kesinleştirir. Değerlerin 1000 ünitenin üzerinde olması akut safra pankreatiti için karakteristiktir. Bununla birlikte akut alkolik pankreatitte sıklıkla daha düşük seviyelerde bulunur. Ayrıca serumdaki amilaz konsantrasyonu, içi boş organların delinmesi, mezenter damarlarının tıkanması, barsak tıkanması gibi batında iltihaba yol açan diğer durumlarda, ayrıca kabakulak, böbrek yetmezliği, afferent ans sendromu, diabetik ketoasidoz, alkolizm, safra yolları hastalıkları, makroamilazemi ve nadiren de morfin analogların kullanılması gibi durumlar da da yükselebilmektedir. Eskiden değişik testler arasında en kolay uygulanan ve en spesifik olan olarak kabul edilen serum amilaz seviyesinin ölçümü, bugün o kadar güvenilir bir tanı metodu olarak kabul edilmemektedir. Myokard, tükürük bezi, karaciğer, barsak ve kas dokularında önemli miktarlarda amilaz varlığı tespit edilmiştir. Serumdaki amilaz konsantrasyonu genellikle 24 saat içinde en yüksek değerine ulaşır ve 3-10 gün içerisinde normale döner. Kandaki amilaz düzeyinin yükselmesi, idrardaki amilaz düzeyinin de yükselmesine yol açar. Kan amilazı normale indikten sonra da, bir süre daha idrar amilaz seviyesi yüksek olarak devam eder. Bundan dolayı gecikmiş olgularda idrar amilaz tayini daha doğru olacaktır, idrarla amilaz atılımının saatte 1000 ünite olması, çoğunlukla akut pankreatitte görülür. Bu miktarın daha az olması, diğer hastalıkları düşündürür. Akut pankreatitte idrar amilaz klirensi amilazın tübülsten geri emiliminin gecikmesi nedeniyle artmıştır. Normalde süzülen amilazın %75'i geri emilmektedir. Önceleri bunun pankreatite özgü olduğu sanılmış ve bir tanı yöntemi olarak kullanılmıştır. Ancak bu durum, idrar proteinleri ile tübülüs geri emilim fonksiyonunun aşırı yüklenmesinden köken almakta ve bir çok akut yangısal hastalıkta, böbrek yetmezliğinde, diyabette ya da travmadan sonra doku yıkımının özel olmayan bir etkisi sonucunda ortaya çıkmaktadır. Akut pankreatit vakalarında amilaz/kreatin oranı artar, ancak bunun duyarlılığı ve özgüllük derecesi kesin değildir.(26) Serum amilaz düzeyi ile pankreatit şiddeti arasında bir korelasyon yoktur (22,44-46) Serum amilazın pankreas (p-tip) ve tükürük bezi (s-tip) kaynaklı olmak üzere iki tip izoenzimi vardır. Pankreatik izoamilaz akut ve kronik pankreatit, pankreas

absesi, pankreatik psödokist, pankreas tümörleri, pankreatik asit, pankreas travması, ERCP sonrası, koledokolitiazis, duodenum ülser perforasyonu, mezenter arter oklüzyonu, ileus, akut veya kronik böbrek yetmezliğinde yüksek saptanabilir. Tükürük izoamilazı kabakulak, sialadenit gibi tükürük bezi kökenli enfeksiyon, alkolizm, radyasyon, over kaynaklı tümör veya kistler, dış gebelik rüptürü, prostat tümörleri, akciğer kanseri, diabetik ketoasidoz, akrep sokması, makroamilazemi intrakranial hemoraji, HIV enfeksiyonunda yüksek saptanabilir. S- tip amilaz 55.000 Da büyüklüğünde makromoleküldür. S- tipi amilazın yükseldiği durumlarda molekül büyüklüğü nedeni ile glomerüler filtrasyona geçemeyeceği için serum düzeyi yükselir iken, idrarda düşük kalacaktır. Ayrıca serum amilaz düzeyi yüksek ancak pankreatit ile uyumlu klinik tablo yok ise, serum elektroforezi ile enzim tipine bakılabilir.

Lipaz: Akut pankreatit vakalarında serum lipaz konsantrasyonu da artar ve amilaza oranla daha uzun süre anormal düzeyde kalır. Lipazın serumdaki normal değeri 1,2 ünite olarak kabul edilmekte, 6 ünitenin üzerindeki değerler pankreatiti doğrulamaktadır. Pankreasla ilgili olmayan hastalarda da hiperlipazeminin görülmesi dikkatli olmayı gerektirmektedir. Trigliseritleri digliseritlere ve yağ asitlerine parçalayan sadece pankreastan değil karaciğer ve mideden de salgılanan bir enzimdir. Moleküler ağırlığı amilazınkine yakındır. Glomerüler filtrasyondan sonra tamamen emilir ve idrarda da görülmez. Pankreatik lipaz ekzokrin asiner hücreler tarafından salgılanır, salgılandığı anda aktiflenir. Akut pankreatitli olgularda serum lipaz düzeyi %87 oranında yüksek bulunur. Amilazdan daha spesifiktir. Ancak akut kolesistit, peptik ülser perforasyonu ve mezenter emboli gibi hastalarda da yükselebilir. Serum lipaz yüksekliği amilaz yüksekliğinden daha uzun süre devam ettiği için klinik tanısı geç konan hastalarda daha yararlı bir parametredir. Lipaz alkolik pankreatitte safra pankreatitine göre daha çok artar. Lipaz/Amilaz oranının yüksek olması alkolik pankreatit tanısında kullanılabilir(48)

Elastaz 1: Elastaz 1, özgün elastolitik aktivitesi olan ve aynı zamanda hemoglobin, kazein, fibrin ve albümini de yakabilen bir enzimdir. Akut pankreatitteki başlıca vasküler lezyonlardaki rolü 1968'de tanımlanmıştır. Radyoimmünolojik yöntemlerdeki son gelişmelere kadar, plazmada dolaşan inhibitör kompleksler nedeni ile serum elastaz düzeyleri doğru olarak ölçülememekteydi(49). Elastaz 1, akut pankreatitli bütün

hastalarda, pankreas kanseri olan hastaların çoğunda ve daha az olmak üzere pankreatitli hastalarda yüksek oranlarda saptanmaktadır. Bu enzimin dikkate değer olmasının nedeni amilaz, lipaz ve tripsine kıyasla daha uzun süre serumda yüksek oranlarda bulunmasıdır (49,50). Elastaz 1 böbrek yetmezliği durumunda diğer proteazlara göre daha az etkilenmektedir. Plazma elastazının uzun süreli varlığı geç dönemdeki pankreatit hasarını göstermede özel olarak faydalıdır. Öte yandan, tripsin gibi elastazın da klinik önemi kesin olarak açıklığa kavuşmamıştır. Polimorfonükleer elastaz değişik durumlarda aktive olmuş nötrofillerden salınmakta olup, yakın zamanlarda akut pankreatitle ilgisi saptanmıştır. Dominguez Munoz ve arkadaşları 182 hastada çalışmış ve 28 hastada ağır pankreatit saptamışlardır, %80'lik pozitif tahmin değeri ve %83 duyarlılık bildirmişlerdir. Bu çalışmada, polimorfonükleer elastaz saklanmış plazma örneklerinde retrospektif olarak çalışılmıştır.

Tripsinojen-2: AP tanısında konulmasında serum amilaz ve lipaz kullanımındaki sorunlamalar, tripsinojen-2 gibi diğer markerleri içeren çalışmalara yol açmıştır. Tripsinojen 1 ve 2 normalde pankreatik sıvıda bulunmasına rağmen, sağlıklı kişilerde dolaşımında sadece küçük miktarlarda bulunmaktadır. Akut pankreatitli hastalarda tripsinojen 2'nin dolaşıma tercihi salınımı mevcuttur, serum tripsinojen 2 seviyesi hızla artar ve tipik olarak konsantrasyon normalin 10-20 katına çıkar, üriner konsantrasyon ise daha basamaklı artış gösterir. 500 akut abdominal ağrılı hastayı içeren prospektif bir çalışmada, akut pankreatit tanısı kesin olan 53 hastanın 50'inde üriner tripsinojen 2 testi pozitif olarak değerlendirilmiş (sensitivite % 94), yanlış pozitif sonuç 447 hastanın 21'inde gözlenmiştir (spesifite % 95). Acil servise akut abdominal ağrı ile başvuran 525 hastayı içeren bir başka çalışmada üriner tripsinojen 2 testinin sensitivitesi % 96 spesifitesi % 92 olarak tespit edilmiştir. Tripsinojen pankreasdan salgılanan bir proteinazdır. Başlıca 2 izoformu vardır (tripsinojen 1 ve tripsinojen 2). Normalde serum tripsinojen 1 seviyesi tripsinojen 2 seviyesinden fazladır, fakat akut pankreatitte tripsinojen-2'deki artış daha önemlidir. Böbreklerde tübül geri emilimi daha az olduğu için idrar tripsinojen 2 seviyesi tripsinojen 1'den fazladır. (51-53)

C-Reaktif Protein (CRP): Karaciğer tarafından sentezlenen, çeşitli hastalıklarda saptanan bir akut faz proteindir. Yapılan çalışmalarda ağır atağı olan

akut pankreatitli hastaların CRP değerleri ile tanımlanabileceği saptanmıştır. Uhl ve arkadaşları CRP'de 120mg/l'lik bir artışın %80 hastada prognoz tahmininde etkili olduğunu söylemişlerdir. Doğruluk değeri multipl faktör skorlama sistemlerine benzer olsa da, CRP ölçümü erken tahmini bilgi vermekte yetersizdir (54-57)

Tripsinojen Aktivasyon Peptid (TAP):Akut pankreatitte tripsinojen aktivasyonu anahtar olaylardan biri olarak kabul edilir. Glasgow ve Londra'da, 55 hastalık bir seride, akut pankreatitli hastalarda idrarda TAP ölçülmüştür. Bu hastaların 15'inde ağır atak saptanmıştır ve hastaneye başvuruda bu 15 hastanın 12'sinde 2nmol/l idrar TAP seviyeleri saptanmıştır. Çalışmada %80 duyarlılık ve %67 pozitif tahmin değeri saptanmıştır. Daha sonraki bir çalışmada TAP seviyeleri peritoneal sıvıda ölçülmüştür. Yüksek değerler pankreatik nekroz ile birliktelik göstermiştir (58-60).

İnterlökin-6:Akut pankreatitli hastalarda artmış proinflatuar sitokinler saptanmıştır. Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8(IL-8), interlökin-1-beta (IL-1-beta) düzeylerinin akut pankreatitte arttığına yönelik veriler mevcuttur.İnterlökin-6 prognoz tahmin değeri olarak çalışılmıştır.Plazma interlökin-6 artışı CRP artışına paralellik gösterir, 24 saat içinde CRP artışına öncelik eder.Chen ve arkadaşları,1999'da yayınladıkları bir çalışmada 55 hastanın 1. ve 2. gün TNF-alfa, IL-1-beta,IL-6,IL-8,CRP ve Apache II değerlerini karşılaştırmışlar ve serum IL-6 düzeyinin en iyi erken prognoz tahmin indikatörü olduğunu ifade etmişler,%80'lik duyarlılık ve %71'lik pozitif tahmin değeri bildirilmişlerdir (55,61-64).

Proteaz İnhibitörleri: Prognoz tayininde önemli olduğu gösterilmiş bir diğer kriter de proteaz inhibitörlerinin düzeyidir. Alfa-2-makroglobulin düzeyinde ve tripsin bağlama kapasitesinde azalma, alfa-1-proteaz inhibitörü seviyesinde yükselme, antikimotripsin ve pankreatik sekretuar tripsin inhibitörü düzeylerinde artma şeklindeki değişikliklerin hastalığın şiddetiyle orantılı olduğu Lassen ve Ohisson tarafından gösterilmiştir. Araştırmacılar ağır ataklar sırasında gözlenen düşük alfa-2 makroglobulinin en önemli prognostik kriter olduğuna inanmaktadırlar (55,56).

Diğer parametreler:Fosfolipaz, ribonükleaz, deoksiribonükleaz,karboksipeptidaz gibi çeşitli pankreatik enzimlerin serumda saptanması, lipaz ve amilaza üstünlük taşımamaktadır (26)Dehidratasyonun bir sonucu olarak hematokrit yükselebilir. Ayrıca hemorajik pankreatitte abdominal kan ya da eksuda kaybı nedeni ile hematokrit düşmüş olabilir. Genelde orta derecede bir lökositoz vardır, ancak süpüratif komplikasyonların olmadığı bir durumda lökosit sayısının 12000'in üzerine çıkması beklenmez (6).Serum total bilirubin miktarı alkolik pankreatit dışındaki olguların %50'sinde %1.5 civarında bulunmaktadır. %5 mg'in üstündeki değerlerle birlikte alkalin fosfataz düzeyinin yüksek olması hastalığın daha çok biliyer kökenli olduğunu düşündürür. Karaciğer fonksiyon testleri genelde normaldir. LDH'nin 700 ünite üzerine çıkması, serum aspartat transferaz (AST) düzeyinin 250 Sigma-Frankel birimini aşması ve arter kanındaki oksijen basıncının 60 mmHg'nin altına inmesi prognozun iyi olmadığını gösteren bulgulardır (24).Hastalarda geçici hiperglisemi ve glikozüri de görülmektedir. Bu olay daha önceleri hasarlı pankreasın yeterli insülin yapamamasına bağlıydı, ancak yapılan çalışmalar amilazın karaciğerde glukojeni glukoza çevirdiğini ve pankreatit süresince glukagon salgılandığını göstermiştir (22).Şiddetli pankreatitte serum kalsiyum düzeyi, yağ asitleriyle kompleks oluşumu nedeni ile düşer. Kalsiyum seviyesi 9 mg/dl'nin altına iner. 7.5mg/dl'den daha aşağı düşmesi, olayın ağırlığını gösterir. Hipokalsemi günlerce devam edebilir. Söz konusu elektrolit bozukluklarına eşlik edebilen EKG bulguları; Q-T uzaması, S-T çökmesi ve T negatifliği şeklindedir. Akut pankreatit vakalarında serum trigliserid konsantrasyonu da artabilir, eğer serum süt görünümündeyse serum amilaz konsantrasyonu dolaşımdaki bir inhibitör tarafından sahte olarak düşürülmüş olabilir.İlk 48 saat kan üresi ve azotunun yüksek olması, mortalitenin artacağını göstermektedir. Son yıllarda hafif albüminüriye tanı yönünden önem verilmektedir. Hastalıkla doğrudan ilişkisi bulunmamakla beraber bu bulguya sık rastlanır ve pankreas kuyruğunun sol böbreğe yakın olması nedeni ile sol böbrekte geçici tipte interstisyel nefrit ve perinefrit oluşmasına bağlıdır. Bunun sonucunda albüminüri ve piyüri oluşur.Pankreatitli olguların pek çoğunda solunum sayısı artmış olup, pankreatit nedeniyle oluşan ölümlerin yaklaşık 1/3'ü solunum yetmezliği ile ilgilidir. Biyokimyasal tetkikler, akut pankreatit tanısında hekimi her zaman kesin tanıya götürememekte, bazen de yanıltabilmektedir.(39)

2.2.DENEYSSEL AKUT PANKREATİT

2.2.1. Deneysel Akut Pankreatit Modelleri

İmmünolojik Pankreatit

1955 yılında Thal tavşanların pankreasında Arthus reaksiyonu ile değişik derecelerde indüklemeye yapmıştır(65). Hayvanlara başlangıçta 1 gr intravenöz ovalbumin (20ml salin içerisinde) vermiş ,sonra da 5 günlük aralarla s.c.olarak 200mg vermiştir. 4. hafta da sensitize olan hayvanların pankreasına 0,5ml ovalbumin intraduktal olarak verildiğinde akut interstisyel pankreatit oluştuğunu gözlemiştir. 8. hafta hayvanların ileri derecede sensitize olduğunu düşünerek yine 0,5ml ovalbumin intraduktal vererek pankreatik nekroz oluşturmuştur. Thal bu modellerin insanda interstisyel ve nekrotik formlara karşılık geldiğini söylemiştir(65). Diğer taraftan meningokok ve E.coli endotoksinleri tavşan pankreasına intraduktal olarak verilmiş, bundan 24 saat sonra aynı toksinin 1/40'lık dilüsyonundan 2cc'lik miktar intravenöz olarak verilerek Schwartzmann reaksiyonu oluşturulmuştur(66). 2.enjeksiyondan 4-24 saat sonra tüm hayvanlar ölmüştür ve bu da akut hemorajik pankreatit modeli olarak yorumlanmıştır.Bu modellerdeki esas problem diğer organ sistemlerinde oluşan nonspesifik generalize immünolojik cevap ve yüksek derecede olan erken mortalitedir.Daha sonraları Nevalainen (67) daha yeni bir model bulmuştur. 1ml taze tavşan serumu hem intraperitoneal olarak hem de pankreatik duktus içerisine (ratlarda) verilmesi akut nekrotizan pankreatit yapmaktadır. Bu muhtemelen kompleman aracılığı ile olan bir etkidir. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda kısa süre içerisinde oluşan membran hasarının osmotik hasara, hücre ölümüne ve asiner hücrelerin nekrozuna yol açmaktadır. İmmünolojiye dayanan daha birçok modeller de bildirilmiştir. Bunlar asiner hücre antiserumlarının ratlara intraduktal verilmesiyle başlangıçta orta derecede bir inflamatuvar cevap ortaya çıkartan ve 16 saatten sonra da ekstrapankreatik yağ nekrozları ile birlikte şiddetli pankreatitlerin oluştuğu bir modeldir. Lezyonların nonspesifik oluşu ve dereceli bir cevap alınmayışı yüzünden immünolojik modeller geniş çapta

kullanılmamaktadır. Cerrahide bu modele fizyopatolojik ve morfolojik açıdan yaklaşılabilen veya benzetilebilen durum toksinlerin veya ilaçların sebep olduğu erken ödematöz akut pankreatitlerdir. Bu modellerin diğer bir dezavantajları da önemli ölçüdeki endokrin etkisidir. Bu modelde Langerhans adacıkları da olaya katılmaktadır ve bu da sekonder diabet yapmaktadır. Sekonder diabetlerin alındığı klinik akut pankreatitlere yaklaşım için bu model bu yan etkisi nedeniyle bir avantaj kazandırabilir.

Sekretuar Bir Ajanla İndüklenen Pankreatit

Ratlarda pankreatit, s.c veya i.v. olarak verilen ve pankreatik asiner otoliz yapacak seviyelere kadar proteolitik enzimleri arttıran ajanlarla indüklenebilir. Bu ajanların i.v. yolla verilmesi santral venöz kanülasyon gerektirmektedir. Cerulein saatte kg başına 5 ila 10 µgr dozunda 4 ila 24 saatlik periyotlarda salın solüsyonu içerisinde i.v.olarak verilebilir ya da saatte kg başına 50 µgr kadar çökan dozda 3 saat boyunca s.c. olarak verilebilir. Bu modelde progressif interstisyel ödem oluşmaktadır. Ödem infüzyondan 1 saat sonra başlamakta ve 12. saatte maksimum olmaktadır. Plazma amilaz seviyeleri 3,6 ve 12 saatlik infüzyonlarda kontrol değerlerine göre giderek artmakta ve 10 katına ulaşmaktadır. Ancak 24 saat sonra pankreatik lobüller cerulein'in in vitro etkisine total olarak duyarlı kalmaktadırlar. Ratlarda cerulein ile indüklenen pankreatit erişkinin sıkıntılı solunum sendromu (ARDS) benzeri akciğer injürisi oluştururlar. Burada artmış pulmoner mikrovasküler permeabilite vardır ve alveoler hücre injürisinin histolojik görüntüleri oluşur. Bu model bir takım avantajlar getirmektedir. Bir kere pankreatit derecesi kolaylıkla kontrol edilebilmektedir ve bu seviye sürdürülebilir. Bu model ratta, farede ve köpekte uygulanabilir. Bu model diyetle indüklenen bir model eşliğinde de uygulanabilir. Böyle bir modelde lizozomal hidrolazlar ile tripsinojen aktive edilmekte ve pankreatitte alternatif bir patogeneze ortaya çıkmaktadır. Cerrahi akut pankreatitteki asiner hücrelerin strüktürel değişiklikleri, ratlardaki hormon ile indüklenen pankreatitteki bir çok özelliği paylaşmaktadır. Bu model pankreatite bağlı gelişen pulmoner injürinin patogenezesinin araştırılmasında da kullanılabilir. Pulmoner injürinin strüktürel görünüşü ARDS'nin erken evrelerinde görülen ile aynıdır. Özellikle polimorfonükleer lökositlerin pulmoner mikro damarlar içerisinde kümelenmesi hormon ile indüklenen pankreatitlerin erken evresinde görülmektedir ve bu,

pankreatite baēlı akciēer injürisinin patogeneğinde önemli bir faktör olarak gösterilmektedir. Cerulein saēlıklı insanlarda supramaksimal dozlardaki infüzyonu serum amilaz seviyesindeki yükselmeyi de içeren pankreatitin işaretlerini ortaya çkarmaktadır. Bu supramaksimal stimölasyon modelleri tedaviden ziyade asiner fonksiyonların selüler çalışmaları alanında uygundur. Bu model genelde ödematöz pankreatitin erken safhalarını deēerlendirmede kullanışlıdır ve pankreatit fizyopatolojisindeki endokrin deēiřliklerin (sekretin ve kolesistokinin seviyeleri gibi) deēerlendirmede kolaylık saēlar. Bu model aynı zamanda nekrotizan pankreatitin çok erken evrelerinde yapılan kontrastlı komputerte tomografinin pankreatik nekrozu daha da kötüleřtirebileceēini göstermek amacıyla da kullanılabilir. İnsanlar üzerindeki bu çalışmanın sonuçları da ilgiyle beklenmektedir.

Diyetle İndüklenen Pankreatit

Nekrotik akut hemorajik pankreatit dişi farelerde kolinden k›stlı etioninden destekli diyet kullanılarak indüklenmiştir (CDE diyeti). Erkek fareler DL-etionin içeren CDE diyeti ile indüklenmeye hassas bulunmamıştır. Cinsiyet farkı östrojen etkisine veya nötralize aktif pankreatik enzim kapasitesinin azalmasına baēlı olabilir. Pankreatik ve peripankreatik inflamasyonun makroskopik ve histolojik görüntüsü diyetle indüklenen pankreatitin klinik ve biyokimyasal seyri kadar insan hastalıēının tablosunu yansıtmaktadır. Asit, asidoz, hipoksi ve hipovolemi hem bu modelde hem de insan pankreatitinde bulunmaktadır. Bu model pankreatit, oksijenden derive edilen serbest radikal hasarının çalışılması için uygundur. Dezavantajları ise zedelenmenin miktar›nın cinsiyet, yaş, farenin aēırlıēı, CDE diyetinin alımının gruplar arasında eēit olması gerektiēidir. Bununla birlikte bu model muhtemelen akut hemorajik pankreatit için en basit çalışmadır. Diēer dezavantajları yaēlı karaciēerin ve parotitis gibi multipl organ yetmezliēinin ne kadar olduēunun kesin olmamasıdır. Belirgin hiperglisemi ve hipokalemi ile birlikte endokrin bozukluk vardır. Pankreatik ve peripankreatik inflamasyonun makroskopik ve histolojik görüntüsü klinik ve biyokimyasal gidiş kadar diyetle indüklenen pankreatitte insan hastalıēını yansıtmaktadır.

Duktal İnjesiyonla İndüklenen Pankreatit

Düşük basınçlı duktal perfüzyon modeli, bir başka seçenektir. Laparatomiden sonra pankreatik duktus bezin baş ve kuyruğundan kanüle edilip sodyum glikodeoksikolat 15mmol/l, akut ödemli pankreatit oluşturmak için 0,5ml/saat verilir. Ana pankreatik kanal, etanolun intragastrik verilmesi, pankreatik sekresyonun tkal> kanala stimülasyonu veya akut hiperkalsemi yaratılmas> ile geçirgen hale getirilebilir. Aktif pankreatik enzimlerin bir kateter yolu ile kanala perfüze edilmesi akut ödematöz pankreatit yapar. Prostaglandin E2'nin simultan infüzyonu akut hemorajik pankreatit oluşturur. Histolojik olarak pankreatitin karakteristik değişiklikleri 24 saat sonra görülür. Bunlar nekroz, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, hemoraji ve ödemdir. İntravenöz sekretuar tekniğin daha ileri avantajı pankreatik sıvı üretiminin ve kanal basıncının ölçülmesini sağlamasıdır. Bir başka teknik de pankreatik kanala 0,6ml sodyum taurokolat (%1,2-5 solüsyon) verilerek ratlarda pankreatit oluşturulabilir. Bu model pankreatik sıvının analiz için toplanmasına olanak sağlar, fakat basınç kayıtlar> teknik olarak zordur. Bir diğer model de intraduktal düşük konsantrasyonda glikodeoksikolik asid ile birlikte intravenöz cerulein enjeksiyonu yapılarak orta derecede şiddetli, akut pankreatit geliştirilir. Bu bezin bütün alanlar>n> etkiler ve çabuk yapılabilir. Bu modeller pankreatit gelişimini düşük morbidite ve mortalite hızlar> ile (%5-10) sağlar. Ödematöz veya hemorajik pankreatit farmakolojik manüplasyonla yaratılabilir. Bu düşük basınçlı duktal perfüzyon modelinde şu etyolojik faktörlerin oluşturduğu pankreatit modeline karşılık gelir. Kanal obstrüksiyonu, safra reflüsü, etanol alım> ve hiperkalsemi. Histolojik değişiklikler ve oluşan pankreatit süresi, insanda gelişen pankreatite çok benzerlik gösterir. Kedilerde bu modelle oluşturulan akut pankreatit 12 saat civarında gelişip bir haftadan az sürer. Bu model akut pankreatit; infekte nekrotik pankreatitin sistemik etkileri ve intrasellüler erken patogenetik değişiklikleri açıklamak üzere kullanılmıştır. Temel dezavantajlar> kompleks oluşu, pahalı oluşu ve düşük mortalite oranı nedeniyle ölümün bir son nokta olarak değerlendirilememesidir.

Duktus Ligasyonu İle İndüklenen Pankreatit

Pankreatit, basit bir şekilde safra kanalının çevresine, tam duodenuma girdiği noktada bir ligatür yerleştirilerek indüklenebilir. Bu farede posthepatik obstrüktif sarılık ve kolanjite neden olduğu kadar erken pankreatit de oluşturur. Farede ana biliopankreatik kanalın ligasyonu, hemoraji, lökosit infiltrasyonu ve akciğer, mide ve böbrek mikrotrombozu ile multipl organ yetmezliği klinik sendromunu oluşturabilir. Başka çalışma grupları, sadece pankreatik kanalı, veya safrayı ve pankreatik kanalı ayrı ayrı ya da ana biliopankreatik kanalı bağlayarak hemorajik nekrotizan pankreatit oluşturmuşlardır. Bu seriler akut pankreatit ana kanal teorisine yeni kanıtlar eklemiştir. Bu deneysel modelde pankreatit patogenezi için safra reflüsünün gerekli olmadığı görülmektedir. Bu modelin avantajı basitliği, nonspesifik sistemik etkilere sebep olabilecek ilaç kullanımdan sakınması ve ayrıca teorik olarak bilier pankreatik reflü ile olan akut bilier pankreatitin doğal seyri ile paralellik göstermesidir. Kanal ligasyonunun bir başka çeşidi Seidel(68), Pfeffer(69)'in kapalı duodenal loop modelidir. Kesaca duodenumun ilk 10cm'si anestezi altındaki köpekte pilorun hemen distalinden ve duodenumun ikinci ve üçüncü kısmından bölünerek izole edilir. Ana safra kanalı bağlanır ve gastrik akımı yeniden oluşturmak için gastroduodenostomi yapılır. 4 saatte pankreatik ödem, 9 ila 12 saat arasında hemorajik pankreatit meydana gelir. Oluşturulan pankreatitin benzer mekanizması klinikte aktif pankreas enzimlerinin duodenopankreatik reflüsü ile duodenal loopun aşırı distansiyonu ile oluşur. Kanal ligasyonu ile indüklenen pankreatitin temel klinik gidişi, Polya tipi gastrektomiye takiben oluşan pankreatitle korelasyon göstermesidir. Bununla birlikte model teknik olarak hantal ve pahalıdır. Gastroduodenostomiye ihtiyaç göstermeksizin, gastrointestinal devamlılığı yeniden oluşturmak üzere kapalı duodenal loopu çaprazlayan bir plastik tüpün kullanıldığı modifiye bir modelde, klasik Pfeffer modelinden daha ucuz ve daha kolay olmasına rağmen eşlik eden duodenal duvar nekrozu ve pankreatik ve peritoneal sepsis sıklıkla bu modeli komplike hale getirerek sonuçların yorumunu güçleştirir.

Mikrovasküler Olarak İndüklenen Pankreatit

Klinik akut pankreatitin erken patofizyolojisinde bu mikrovasküler değişikliklerin önemli olabileceğine inanılmakta olup belirli modeller bu mekanizmaya bağlı olarak geliştirilmiştir. Akut hemorajik pankreatit kısmi olarak farenin pankreasın arteriyel dolaşımı tıkanarak indüklenebilmektedir. Splenik arter stereomikroskop altında mikrokanül ile kanüle edilir. Artere 20 µm çaplı polistren mikrosferler (0,5ml) (yaklaşık 200 000 damla) infüze edilir. Kanül yerleştirilir ve damar bağlanır. Pankreastaki değişiklikler immünohistokimyasal tekniklerle 30 dk. gibi erken bir sürede saptanır. Böylece belirgin ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hemoraji ve dokudaki yağ nekrozu olayları 24 saat boyunca daha iyi izlenir. Bu tekniğin önemli bir avantajı % 10'dan az mortalite gibi düşük bir mortalite olmasıdır. Bu modelin 3 haftadan sonra kronik aktif pankreatit geliştirebileceğini öneren kanıtlar da vardır. Direkt pankreatik arteriyel veya venöz oklüzyonu içeren daha eski modeller kullanılmamaktadır. Pankreatik mikrodolaşımın bozulmasıyla pankreatitin indüksiyonu klinikte nadir bir olaydır. Poliarterit ve benzer durumlarda görülebilir, koagülopati ve mikrovasküler trombozun bir sonucu olarak akut pankreatitte görülebilen mikrodolaşım bozukluğu nedeniyle ilgi çeker. Daha ötesi bu model daha kronik çalışmalar için adapte edilebilir ve akut relaps gösteren pankreatit çalışmalarında uygun kullanım sağlayabilir. Diğer bir avantajı minimal endokrin bozukluklar olup, adacıklar korunur ve kanal basınçları değişmez.

İzole Organ Perfüzyonu

Bu model Johns Hopkins laboratuvarlarında (70) araştırılarak geliştirilmiştir ve yayınlanmış verilerin çoğu bu enstitüde yapılmıştır. Köpekte yapılan bu modelde, kasa duodenum güdüklü pankreas izole edilerek, splenik arter, superior mezenterik arter ve portal vene perfüzyon kateterleri yerleştirilir. Pankreatik kanal kanüle edilir. Bu doku, ısı ve nemin kontrol edildiği koşullarda, oksijene edilmiş perfüzyon devresine bağlanır. Bu model ile ve sekretin stimülasyonu, serbest yağ asidi infüzyonu ya da 2 saatlik sıcak iske mi ile kısmi kanal obstrüksiyonu oluşturularak, safra taşı, alkolik ve iskemik pankreatit modelleri oluşturulabilir. Bu modelin sistemik değişikliklerden

bağımsız olduğu tartışılabilmesine rağmen, 4 saatlik sürede fonksiyonel engellemeye neden olan, ağır işleyen ve hatalı bir yöntemdir. İnsan hastalığı ile benzerliği kısıtlıdır.

Organ Kültürü

İn vitro explant bir modelde non-perfüze tavşan kullanılarak, etanol ile, pankreatik ekzokrin sekresyonun kontrolü çalışmaları vardır. Bu tek başına pankreatit çalışmaları için uygun değildir.

Hücresel sistem

Pankreatitin moleküler ve hücresel patolojisi deney modelleri ve insandaki otopsi çalışmaları ile henüz çözülmemiştir. Pankreas kanseri araştırmalarında hücre serileri kullanılabilir. Pankreatik explantlardan elde edilen benzer serilerde, toksik stimulus, sitokinlerin gen transkripsiyonu ve ısı şoklu proteinler gibi hücresel ve erken moleküler olayları araştırmada kullanılabilir. Böylece izole selüler tutulumun, tüm organ hasarına dönüşümün ayrıntılı mekanizmaları açığa çıkarılabilir. Bu yaklaşımın avantajı insan pankreasının direkt olarak çalışılabilmesidir. İnsan kadavra pankreas explantlarından (1-2mm'lik) organ kültürü yapılabilir. 2mm/1 metünitrozüre ile haftada 2 kez 1 saatlik muamele ile 6 ay kültüre edilir. Kültürün 0,2,4,8,12,16 ve 26 haftalardan sonraki klonal büyümeleri tripsin ile dağıtılabilir ve hücre serileri geliştirilebilir. Bunlar toksik stimulusa akut inflamasyon cevabının patogenezi için kullanılabilir. Bütün ex vivo modeller akut cerrahi pankreatitin tüm sistemik gidişinin çalışılmasında kısıtlı rol alırlar. Sistem tamamen izole edilebildiği için, modeli karıştırabilecek herhangi bir endokrin bozukluk olmaması potansiyel bir avantajdır.

2.2.2. Deneysel Akut Pankreatit Modellerinin Standardizasyonu

Deneysel modeli değerlendirmek için objektif tablolar vardır, ilk olarak serum amilaz ve lipaz düzeyleri çeşitli tekniklerle ölçülebilir. Bu yöntemler basit ve ucuzdur, ve pankreatik asiner hücre zedelenmesini gösterilir. İkinci olarak, pankreatitin tanısı için histolojik değerlendirme gereklidir. Ödemi, inflamatuvar infiltrasyonu, yağ nekrozunu, parenkimal nekrozu ve hemorajiyi değerlendirmek için bir skorlama sisteminin kullanılmasıyla objektivite sağlanır. Dokular parafinle muamele edilmiş pankreas boyunca alınır. Üçüncü olarak, pankreatit ve ölüm arasındaki zaman intervali her zaman belirlenmelidir. Dördüncü olarak, her bir modelin spesifik morbiditesi ek kan ölçümleri ile (serum kalsiyum, üre, glikoz gibi) değerlendirmelidir. Histamin ve çeşitli enzimlerin ölçümünü içeren daha kompleks testler belli bir organ yetmezliği ile ilgili ayrıntılı bilgi sağlayabilir. Beşinci olarak, konvensiyonel ışık mikroskopisine ek olarak standardizasyon için daha iyi olan elektron mikroskobu, immünohistokimyasal ve otoradyografi kullanılabilir. Sonuç olarak, özellikle terapötik ve cerrahi yaklaşımların çalışıldığı daha büyük modellerde, fizyolojik takip bazen yapılabilir. Köpekler, domuzlar ve tavşanlar için sol ventrikül basıncı, sistemik arteryel basınç, pulmoner arteryel basınç, kardiyak output, kalp hızı ve kan akımı çalışmaları rapor edilmiştir.

2.2.3. Uygun Deneysel Model Seçimi

Akut pankreatite farklı yaklaşımları incelemek için, farklı modeller kullanılabilir. Genellikle akut pankreatitin terapötik çalışmasından ziyade patolojik ve morfolojik çalışmasında deneysel modeller daha uygundur(71). Duktus injeksiyonu veya ligasyonu modellerinin safra taşı pankreatitine, diyetle veya sekretuar olarak indüklenen pankreatit, alkolik pankreatit modellerine benzediği ileri sürülmüştür. Ancak bu bakış açısı tartışmalıdır(72). Pankreatitin üç ana morfolojik tipi ödematöz, nekrotizan ve hemorajiktir. Son ikisi sıklıkla birlikte sınıflandırılır. Birçok model bu varyasyonların birisine benzerlik gösterir. Örneğin ödematöz pankreatit için cerulein stimülasyonu ve

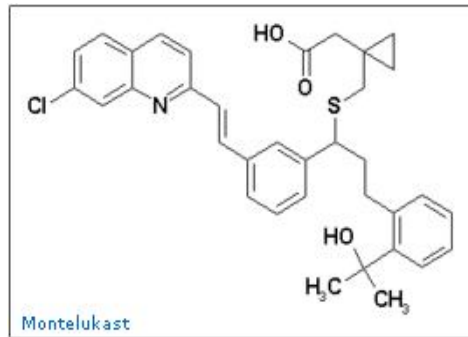
duktal ligasyonun belirli formları iyi modeller oluştururken, nekrotizan pankreatit için CDE diyeti veya duktal injeksiyon daha çok tercih edilir(73).Özellikle düşük basınçlı duktal perfüzyon modelleri kedilerde akut pankreatit oluşturmada uygundur. Aktif pankreatik enzimler ana pankreatik kanal içinden perfüze olur ve akut ödematöz pankreatitle sonuçlanır.Aynı anda prostaglandin E2 infüzyonu akut ödematöz pankreatiti akut hemorajik pankreatite çevirir. Yukarıda tanımlanan mikrovasküler mikrosfer modeli akut nekrotizan pankreatit oluşturur ve kronik hastalık çalışmalarında uygulanabilir. Daha küçük hayvan modelleri ucuz, uygun ve tekrarlanabilir. Cerulein modeli ödematöz pankreatit için temel bir sistem olarak önerilir ve CDE diyet modeli nekrotizan pankreatit için dişi farelerde uygundur. Bununla birlikte kemirici hayvan modelleri sadece morfoloji ve patogenez çalışmaları için uygundur. Mikrovasküler mikrosfer modeli yukarıdaki tekniklere ilave olarak kullanılabilir. Tedavi çalışmaları için düşük basınçlı duktal perfüzyon tekniği gibi daha büyük köpek ya da kedi modelleri önerilir. Bununla birlikte daha büyük modeller, daha pahalı ve karmaşıktır. Gelecekte in vitro explant modellerinde daha çok araştırmayı başarmak mümkün olabilir. Her bir deneysel model insandakine benzer değişik derecelerde pankreatitin farklı tipleri ile sonuçlanır. Akut pankreatitte değişik terapötik ajanlar ile tekrarlanarak yapılan incelemelerde, hayvan çalışmalarının %81'inde survival oranında bir düzelme gösterilirken, insan çalışmalarının %10'undan daha azında herhangi bir fayda gösterilememiştir(74). Eğer deneysel modellerde yeni ajanlar kullanılıyorsa, şu üç durumun farkında olunması önemlidir.Birincisi; hayvan modeli ve insan hastalığı arasındaki patogenez farklı olabilir. İkincisi; hastalık her ikisinde aynı olsa bile yapılan tedaviye, insana göre hayvanlarda farklı cevap ortaya çıkabilir. Son olarak da modelde pankreatit başlatıldıktan sonra tedaviye başlamak gerekir. Çünkü insanlardaki erken pankreatitlerde bile klinik durum patolojik olayların başlamasından 24-36 saat sonra kendini gösterir. Ayrıca şu da akılda tutulmalıdır ki hayvan modelleri için, patoloji, morfoloji ve tanının birlikte araştırıldığı modeller en önemlileridir. Sonuç olarak; ideal hastalığı yaratan tek bir deneysel akut pankreatit modeli yoktur. Tüm teknikler birarada düşünüldüğünde, klinik araştırma için bir zemin yaratılabilir(75,76).

2.3.CERULEİN

Bir dekapeptid olan cerulein, *Hyla caerulea* isimli bir amfibinin (Avustralya kurbağası) derisinden izole edilmiştir (77,78). Kolesistokinin-pankrezozimin analogu olan cerulein ilk defa 1977 yılında Lampel ve Kern tarafından ratlarda deneysel olarak akut interstisyel pankreatit oluşturmak için kullanılmıştır (79). Cerulein intravenöz, subkutan ve intraperitoneal olarak kullanılabilir. Ratlarda hem intravenöz bolus enjeksiyonu olarak, hem de intravenöz infüzyon şeklinde verildiğinde pankreas dokusundaki kolesistokinin reseptörlerini uyararak birkaç saat içinde pankreasta ödem, histolojik olarak asiner hücrelerin vakuolizasyon ve lökosit infiltrasyonu ve serum amilaz düzeyinde artma ile seyreden ödematöz pankreatit yaptığı bir çok çalışmada gösterilmişse de, yaygın nekrozla giden pankreatite de yol açabilir (80-82). Deneysel akut pankreatit modellerinde cerulein yaygın olarak kullanılmaktadır. Pankreas asiner hücrelerinin kaba endoplazmik retikulumunda sentezlenen proteinler golgi cisimciği tarafından kullanılacaklar yere göre ayrılmaktadır. Sindirim enzimleri ve zimojenler, inaktif formlarında sekresyon için hazırlanmakta, lizozomal hidrolazlar ise hücre bileşenleri içine yerleştirilmektedirler. Cerulein bu aşamaları bozmakta ve her iki enzim grubu büyük immatür vakuoller içinde toplanmaktadır. Lizozomal bir enzim olan katepsin B' nin tripsinojeni aktive ederek sindirim enzimlerinin intrasellüler aktivasyonuna neden olabileceği düşünülmektedir (83,84). Sitoplazma içinde bulunan zimojen granüller içeriklerini lizozomlara boşaltırlar. Buna krinofaji denilmektedir. Sonuçta yaygın inflamasyon ve pankreatit görülmektedir (85). Cerulein intraperitoneal verileceği zaman 5-200 µg/kg doz aralığında ve birer saatlik intervallerle tekrarlayan uygulamalarla kullanılmaktadır (86). 20 µg/kg/saat intravenöz infüzyonla 6 saatte verilmesi akut hemorojik pankreatite neden olur. Bir saat aralarla 50 µg/kg 4 kez intramusküler, bir saat aralarla 50 µg/kg 2-4 kez subkutan uygulanması da akut pankreatite yol açmaktadır. İnterstisyel inflamasyon ve asiner hücre nekrozu belirgin olarak cerulein uygulamasından sonra 6 saat içinde başlamakta, 12. saatte maksimuma ulaşmakta ve çoğu kez 4 gün içinde de kaybolmaktadır. (78,83). Strowski ve arkadaşları birer saatlik intervallerle beş kez 10 mikrogram/kg dozlarında cerulein uyguladıkları ratlarda akut ödematöz pankreatit oluşturmuşlardır (87).

2.4. MONTELUKAST

Montelukast , astım ve alerjik rinit tedavisinde kullanılmış için lisanslı olan ,selektif bir sisteinil lökotrien reseptör antagonistidir.Ancak lisanslı olduğu astım ve alerjik rinit dışında, bu hastalıklarla ilişkili (kronik obstrüktif akciğer hastalığı,intersitisyel akciğer hastalığı,kronik ürtiker,atopik dermatit,nazal polipozis,sinüzit) ve ilişkisiz (migren,kistik fibrozis,malignensi,aterosikloroz,pankreatit,inflamatuar barsak hastalığı,gastrit,) pek çok hastalıkta faydalı olabileceğine dair klinik ve deneysel çalışma mevcuttur(88).Montelukast kompetatif etki ile sisLT₁ reseptörlerini bloke ederek , lökotrienlerin inflamasyondaki etkilerini engeller.Absorbe olduktan sonra plazma proteinlerine yüksek oranda(%99) bağlanır.Biyoyararlanımı % 63-73 dür.Karaciğerde,kısmen CYP3A4 enzimi ile metabolize edilir;metabolitleri ve değişmemiş ilaç safra ile barsağa atılır.Eleminasyon yarılanma ömrü 3-5 saattir.Karaciğer yetmezliğinde eliminasyonu yavaşlar.CYP3A4 enzimini inhibe eden ketokonazol,itrakonazol,eritromisin ve benzeri ilaçlar toksisitesini artıran, bu enzimi indükliyen fenitoin, fenobarbütal ve rifampisin etkisini azaltabilir.Teofilin ve kortikosteroidlerle farmakokinetik etkileşme göstermez(90).Montelukastın böbrek ve karaciğer dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarını önlediği,inflamatuar barsak hastalığında inflamasyonu baskıladığı,midede mukoza hasarını azalttığı ve koruyucu etki yaptığı,deri flebi yaşayabilirliğini artırdığı,pulmoner fibrozisi engellediği,psoriasisdeki inflamasyonu azalttığı,Behçet artritinde inflamasyonu baskıladığı yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır(89). şekil 1’ de yapısal formülü görülen montelukastın moleköl ağırlığı 586.184 g/mol olup, kimyasal formülü C₃₅ H₃₆ ClNO₃ S şeklinde dir.



şekil 1:Montelukast’ın yapısal formülü

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Denepleri Etik Kurulu onayından sonra , Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi Laboratuvarları'nda yapıldı.Çalışmada ağırlıkları 295-325 gr arasında değişen toplam 40 adet, spesifik patojen taşımayan Sprague-Dawley türü erkek rat kullanıldı. Ratlar 12'şer saatlik gece (karanlık)-gündüz(ışıklı) siklusuna uygun olarak, 20 °C de laboratuvar koşullarında barındırılıp, standart rat yemi(protein %24,lysine %1,metionin %0.6,sistein %0.4,selüloz %7,NaCl %1, Ca%1.5 ve enerji 2650 kcal/kg) ve musluk suyu ile beslendi. Çalışmadan önce tüm ratlar hassas terazide (Sartorius E2000D,Germany) tartıldı.

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Her grupta 10 rat olmak üzere toplam 40 rattan oluşan 4 grup oluşturuldu. Cerulein(C) grubundaki 10 rata birer saat ara ile 4 kere 20 µg/kg Cerulein(Sigma Chemical,USA) subkutan enjekte edildi(Şekil 4).Cerulein+erken Montelukast(CMe) grubundaki 10 rata ilk Cerulein dozundan 4 ve 8 saat önce olmak üzere 2 kere 10 mg/kg Montelukast sodyum(Bilim İlaç,İstanbul) subkutan enjekte edildi,ardından birer saat ara ile 4 kere 20 µg/kg Cerulein subkutan enjekte edildi.Cerulein+geç Montelukast(CMg) grubundaki 10 rata önce birer saat ara ile 4 kere 20 µg/kg Cerulein subkutan ,ilk Cerulein dozundan 4 ve 8 saat sonra iki kere 10 mg/kg Montelukast sodyum subkutan enjekte edildi.Kontrol (K) grubuna birer saat ara ile dört kere Cerulein ile eş hacimli(0,2ml) % 0.9 luk NaCl solüsyonu subkutan enjekte edildi.Çalışma grupları Tablo II'de gösterilmiştir. Tüm ratlarda, ilk Cerulein enjeksiyonundan 12 saat sonra , 10 mg/kg i.m. ketamin HCl (Ketalar,Eczacıbaşı İlaç, İstanbul) anestezisi altında cilt ciltaltı dokular diseke edilerek , sağ femoral arter ortaya kondu.Sonra içinden heparin geçirilmiş 22 nolu bir intravenöz katater (Venflon, 22GA 0,98IN 0,8 × 25 mm, Helsinborg, Sweden) sağ femoral artere yerleştirildi. (Şekil 5). Femoral artere yerleştirilen kataterden kan gazları için , heparinli enjektörle 0.5 ml arteryel kan örneği alındı.Yine aynı kataterden hematokrit ve lökosit için hemogram tüpüne 1 ml, pankreatik amilaz ve lipaz için biyokimya tüpüne 2 ml kan örnekleri alındıktan sonra

ratlar sakrifiye edildi.Karın bölgeleri traş edildikten sonra %10'luk Polivinilpirolidon iyot solüsyonu(Batticon sol, Adeka İlaç ,Samsun) ile saha temizliği sağlandı.Orta hat kesi ile laparotomi(Şekil 6) yapılarak histopatolojik inceleme için pankreas dokular› total olarak çıkar›ld›.Makroskopik olarak bazı ratlarda normal pankreas(Şekil 7) izlenirken ,bazı ratlarda çeşitli derecelerde akut pankreatit hali (Şekil 8)gözlemlendi.

Tablo II: Çalışma Grupları ve Yapılan İşlemler

| GRUPLAR | ENJEKTE EDİLEN İLAÇLAR | 12.SAAT SAKRİFİKASYON |
|---|---|------------------------------|
| C (cerulein) | 1'er saat ara ile 4 kere 20 µg/kg Cerulein s.c | n=10 |
| CMe (cerulein + erken montelukast) | 1.cerulein dozundan 4 ve 8 saat önce 10mg/kg Montelukast s.c , ardından birer saat arayla 4 kere 20 µg/kg Cerulein s.c. | n=10 |
| CMg (cerulein + geç montelukast) | 1'er saat ara ile 4 kere20µg/kg Cerulein s.c,ardından 4 ve 8 saat sonra 10 mg/kg Montelukast s.c. | n=10 |
| K (kontrol) | 1'er saat ara ile 4 kere 0,2ml(ceruleinle eş hacimli) %0.9 NaCl s.c. | n=10 |

3.2.LABORATUAR İNCELEMELERİ

Kan örnekleri C, CMe , CMg gruplarında ilk Cerulein enjeksiyonundan 12 saat sonra, K grubunda ilk serum fizyolojik enjeksiyonundan 12 saat sonra alındı. Kan gazları için heparinli enjektörlere 0.5 ml arteryel kan örneği alınıp bekletilmeden Compact 2 Blood Gas Analyzer (Roche Diagnostics, Germany) cihazında çalışıldı. Hematokrit ve lökosit çalışmak için hemogram tüpüne alınan 1 ml.kan Pentra 60 (ABX PENTRA 60,September,1999,Montpellier,France) cihazında çalışıldı. Pankreatik amilaz ve lipaz çalışılması için alınan 2ml kan örneği oda sıcaklığında 40 dakika bekletildikten sonra 3500 devirde 5 dakika santrüfjü edilerek serumu ayrıştırıldı.(Şekil 2). Otomatik mikropipet ile 0.5 ml serum eppendorf tüplerine(Şekil 3) alınarak Cobas Integra 800 Autoanalyzer(Roche Diagnostics,Germany) cihazında çalışıldı.



Şekil 2: Kan örneklerinin santrüfjü



Şekil 3: Serumların eppendorf tüplerine alınması

3.3. PANKREATİK SU İÇERİKLERİNİN HESAPLANMASI

Akut pankreatitte,inflamasyon ve ödeme bağılı olarak pankreasın su içeriğinde artış olacağı düşünülerek ,bunun değerlendirmesini yapmak üzere pankreas dokusunun kuyruk kesimlerinden parçalar alındı.Bu parçalar hassas terazide tartılıp yaş ağırlık olarak kaydedildi.(Şekil 9)Pastör fırınında 60 °C'de 72 saat tutularak kurutulduktan

sonra tekrar tartıldı ve kuru ağırlık olarak kaydedildi.Yaş ağırlıkla kuru ağırlık arasındaki fark pankreatik su içeriği olarak kaydedildi.Pankreatik su içeriklerinin pankreas yaş ağırlığına oranı % cinsinden kaydedilerek gruplar arası istatistiksel karşılaştırma yapıldı.

3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Sakrifikasyonu takiben ratların karınları orta hat kesi ile açılarak ,histopatolojik inceleme için pankreas dokuları total olarak çıkarıldı.Pankreasların kuyruk kesiminden 1 cm eninde doku örnekleri yaş ve kuru ağırlıkları değerlendirilmek üzere ayrıldıktan sonra,kalan pankreas dokuları %10'luk tamponlanmış formalin içeren kaplara konularak patoloji laboratuvarına götürüldü. Formalinli solüsyon içinde 24 saat fikse edilen pankreas dokuları parafine gömüldü.Hazırlanan parafin bloklardan 4-6 µm'lik kesitler alınıp,bunlar Hemotoksilen & Eosin Boyası ile boyandı.Hazırlanan kesitler uygulanan deney protokünden habersiz bir patolog tarafından tek kör yöntemle Nikon Eclipse E 600 (mikrofotoğraf ataçmanlı) ışık mikroskopu ile Schönberg'in Pankreatit Skorumaya göre değerlendirildi(91).

Schönberg'e göre pankreas dokusu histopatolojik olarak; ödem, inflamasyon, vaskülopatoloji ve nekroza 0-4 arasında değişen skorlar verilerek değerlendirilir.

Schönberg'in pankreatit skorumaya indeksi Tablo III' de verilmiştir.

3.5. İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME

Ölçümlerden elde edilen ,normal dağılıma uyan ve varyansları homojen olan verilerin ikili karşılaştırılmasında Student T testi ,ölçümlerden elde edilen ve normal dağılıma uymayan verilerin ikili karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi,skorumaya göre elde edilen verilerin ikili karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

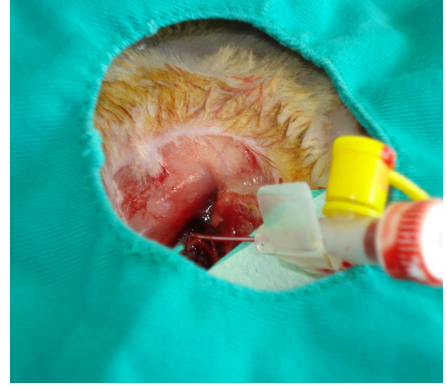
$p < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir.

Tablo III :Schönberg'in pankreatit skorlama indeksi(91)

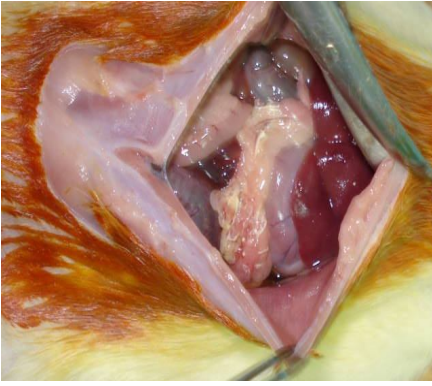
| Schönberg'in Pankreatit Skorlama İndeksi | |
|---|---|
| Ödem | <p>0 Yok</p> <p>1 İnterlobler septalarda diffüz genişleme</p> <p>2 1 (+) İnterlobüler septalarda diffüz genişleme</p> <p>3 2 (+) İnterasiner septalarda diffüz genişleme</p> <p>4 3 (+) İnterasiner septalarda diffüz genişleme</p> |
| İnflamasyon | <p>0 Yok</p> <p>1 Duktuslar etrafında</p> <p>2 Parankim içerisinde(<%50 lobülde)</p> <p>3 Parankim içerisinde(%51-75 lobülde)</p> <p>4 Parankim içerisinde(>%75 lobülde)</p> |
| Vakuolizasyon | <p>0 Yok</p> <p>1 Periduktal(<%5)</p> <p>2 Fokal(%5-20)</p> <p>3 Diffüz(%21-50)</p> <p>4 Şiddetli(>%50)</p> |
| Nekroz | <p>0 Yok</p> <p>1 1-4 nekrotik hücre*</p> <p>2 5-10 nekrotik hücre</p> <p>3 11-16 nekrotik hücre</p> <p>4 >16 nekrotik hücre</p> <p>*(mikroskopik sahasında)</p> |



Şekil 4: Subkutan enjeksiyon



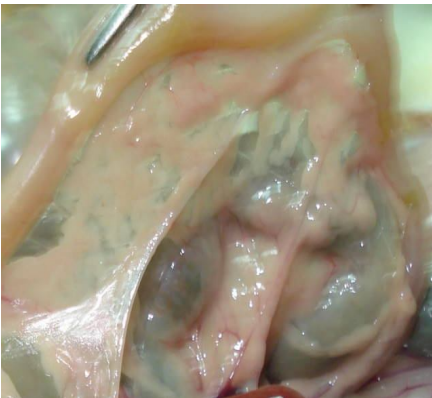
Şekil 5: Femoral arterden kan alınımı



Şekil 6: Orta hat kesi ile laparotomi



Şekil 7: Normal pankreas dokusu



Şekil 8: Akut ödematöz pankreatit



Şekil 9: Hassas teazide tartım işlemi

4. BULGULAR

4.1. LABORATUAR BULGULARI

4.1.1.Biyokimyasal Bulgular:

Pankreatik amilaz ve lipaz değerleri kontrol(K) grubuyla karşılaştırıldığında; cerulein(C) ,cerulein+erken montelukast(CMe),cerulein+geç montelukast (CMg) gruplarında anlamlı olarak artmış izlendi.($p<0.05$)

C grubuyla CMe grubu karşılaştırıldığında CMe grubunda pankreatik amilaz ve lipaz değerleri anlamlı şekilde azalmış izlendi.($p<0.05$)

C grubuyla CMg grubu karşılaştırıldığında pankreatik amilaz ve lipaz değerleri aras›nda istatistiksel olarak anlaml› fark izlenmedi.

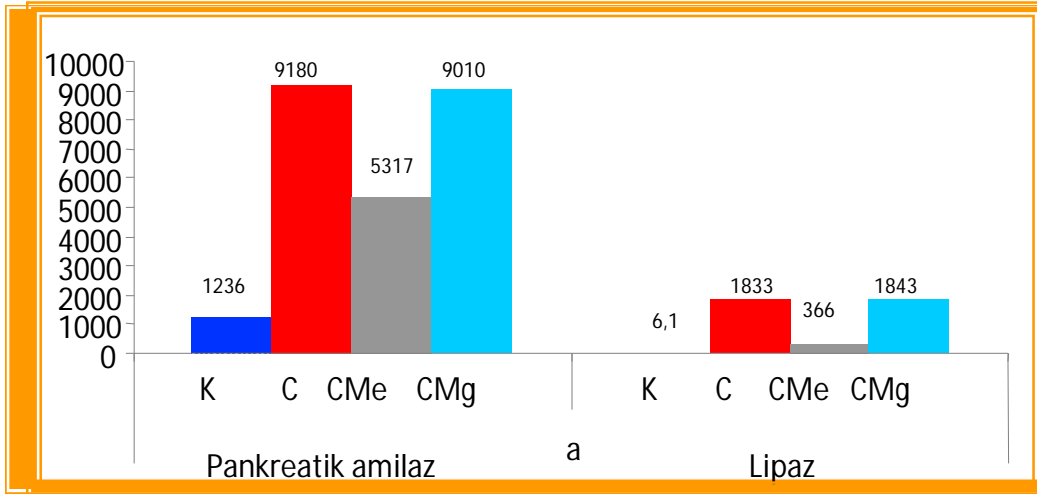
Gruplara g›re minumum,maksimum,ortalama ve standart sapma değerleri amilaz için Tablo IV’de ,lipaz için TabloV’de g›sterilmiştir. Pankreatik amilaz ve lipazın ortalama değerlerinin grafiksel karşılaştırılması şekil 10’da g›sterilmiştir.

TabloIV:Gruplara g›re pankreatik amilaz değerleri

| p.amilaz (u/L) | minumum | maximum | ortalama | standart sapma |
|----------------|---------|----------|----------|----------------|
| K | 947.80 | 1396.80 | 1236.32 | 134.94 |
| C | 7834.90 | 10998.30 | 9180.54 | 1143.18 |
| CMe | 2178.80 | 7892.40 | 5317.08 | 2177.84 |
| CMg | 7912.30 | 10512.70 | 9010.02 | 848.12 |

TabloV:Gruplara g›re lipaz değerleri

| Lipaz (u/L) | minumum | maximum | ortalama | standart sapma |
|-------------|---------|---------|----------|----------------|
| K | 4.0 | 11.0 | 6.1 | 2.84 |
| C | 975.5 | 2657.00 | 1833.80 | 635.02 |
| CMe | 104.00 | 875.00 | 366.60 | 270.43 |
| CMg | 979.00 | 2699.00 | 1843.50 | 650.01 |



Şekil 10:Grupların pankreatik amilaz ve lipaz ortalama değerlerinin grafiksel karşılaştırması (u/L)

4.1.2 Hematolojik Bulgular :

Lökosit değerleri K grubuyla karşılaştırıldığında C ve CMg gruplarında anlamlı olarak artmış izlendi($p<0.05$) , CMe grubunda ise anlamlı fark izlenmedi.

Hematokrit değerleri K grubuyla karşılaştırıldığında C,CMe,CMg gruplarında anlamlı olarak artmış izlendi.($p<0.05$)

C grubuyla CMe ve CMg grubu karşılaştırıldığında lökosit ve hematokrit değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

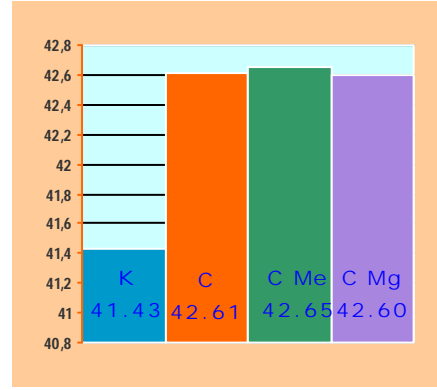
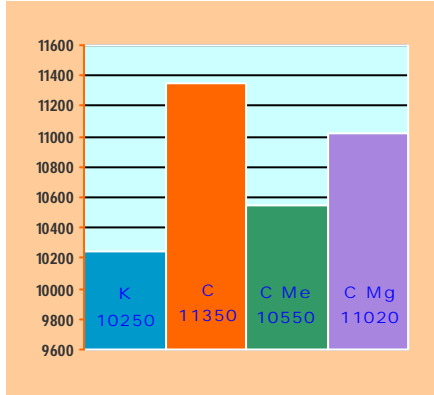
Gruplara göre lökosit değerleri Tablo VI, hematokrit değerleri Tablo VII'de gösterilmiştir.Şekil 11'de ise lökosit ve hematokrit ortalama değerlerinin gruplara göre grafiksel karşılaştırılması yapılmıştır.

Tablo VI :Gruplara göre lökosit değerleri

| Lökosit (/mm ³) | minumum | maximum | ortalama | standart sapma |
|---------------------------------|----------|----------|----------|----------------|
| K | 9200.00 | 11100.00 | 10250.00 | 713.75 |
| C | 9900.00 | 12800.00 | 11350.00 | 1159.74 |
| CMe | 9200.00 | 12000.00 | 10550.00 | 1008.62 |
| CMg | 11000.00 | 13200.00 | 11020.00 | 3570.80 |

Tablo VII: Gruplara göre hematokrit değerleri

| Hematokrit (%) | minimum | maximum | ortalama | standart sapma |
|----------------|---------|---------|----------|----------------|
| K | 40.70 | 42.10 | 41.43 | 0.4164 |
| C | 41.30 | 44.70 | 42.61 | 1.038 |
| CMe | 40.60 | 44.60 | 42.65 | 1.214 |
| CMg | 40.80 | 44.80 | 42.60 | 1.043 |



Şekil 11: Lökosit (/mm³) ve hematokrit (%) ortalama değerlerinin gruplara göre grafiksel karşılaştırılması (mavi:K grubu, kırmızı:C grubu, yeşil:CMe grubu , mor:CMg grubu)

4.1.3.Kan Gazı Bulguları:

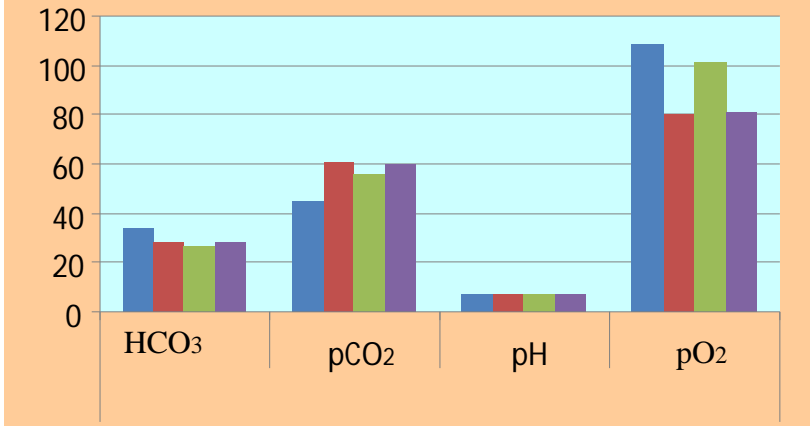
pH, HCO₃, pCO₂ değerlerinin analizinde ; C,CMe,CMg gruplarında K grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi.(p<0.05)

pO₂ değerlerinde C ve CMg gruplarında K grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark izlenirken(p<0.05) ,CMe grubuyla K grubu arasında pO₂ değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi.

C grubuyla CMe grubu karşılaştırıldığında pH, HCO₃, pCO₂, pO₂ değerlerinin hepsinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi(p<0.05)

C grubuyla CMg grubu karşılaştırıldığında pH, HCO₃, pCO₂, pO₂ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

Grupların kan gazları açısından grafiksel karşılaştırılması Şekil 12’de gösterilmiştir.



Şekil 12: Kan gazları ortalama değerlerinin gruplara göre grafiksel karşılaştırılması
(mavi:K grubu, kırmızı:C grubu, yeşil:CMe grubu , mor:CMg grubu)

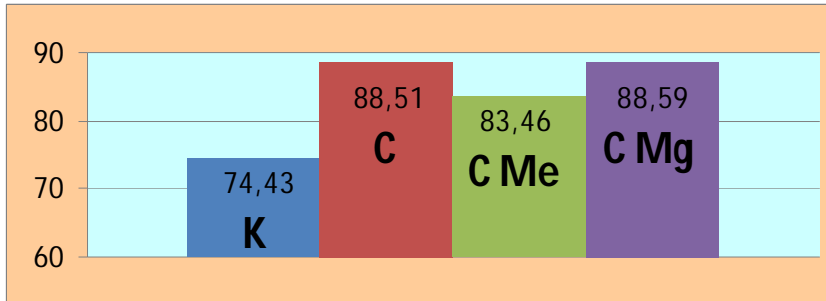
4.2. Pankreatik Su İçerikleri (%) Bulgular:

Pankreatik su içerikleri % değerleri ; C,CMe,CMg gruplarında K grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmış izlendi.(p<0.05)

C grubuyla CMe grubu karşılaştırıldığında CMe grubunda pankreatik su içeriği değerleri anlamlı şekilde azalmış izlendi.(p<0.05)

C grubuyla CMg grubu karşılaştırıldığında pankreatik su içeriği değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

Grupların pankreatik su içeriklerinin grafiksel karşılaştırılması Şekil 13’de gösterilmiştir.



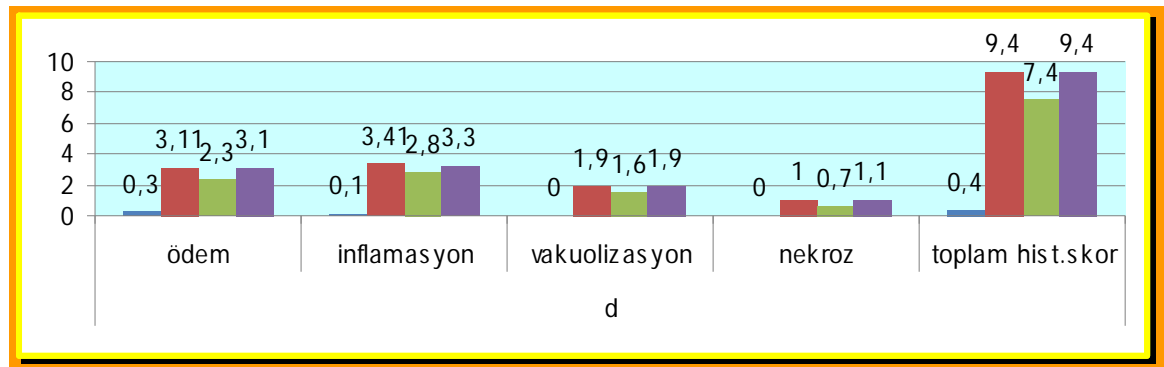
Şekil 13:Pankreatik su içeriklerinin gruplara göre grafiksel karşılaştırılması(%)

4.3. Histopatolojik Bulgular

Ödem, inflamasyon, vakuolizasyon, nekroz ve toplam histopatolojik skor değerlerinin her biri K grubuyla karşılaştırıldığında C, CMe, CMg gruplarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış izlendi ($p < 0.05$). C grubuyla CMe grubu karşılaştırıldığında CMe grubunda ödem, inflamasyon ve toplam histopatolojik skor değerleri anlamlı şekilde azalmış izlendi. ($p < 0.05$). Vakuolizasyon ve nekroz skorlarında CMe ve C grupları arasında anlamlı bir fark izlenmedi. C grubuyla CMg grubu karşılaştırıldığında ödem, inflamasyon, vakuolizasyon ve toplam histopatolojik skor değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Tablo VIII'de grupların histopatolojik skorları ($n=10$), Şekil 14'de histopatolojik skorların gruplara göre grafiksel karşılaştırması gösterilmiştir. Şekil 15'de Hemotoksilen Eosin (HE) ile boyanan rat pankreaslarının ışık mikroskopisinde çeşitli büyütmelelerdeki görüntülerinden bazıları gösterilmiştir.

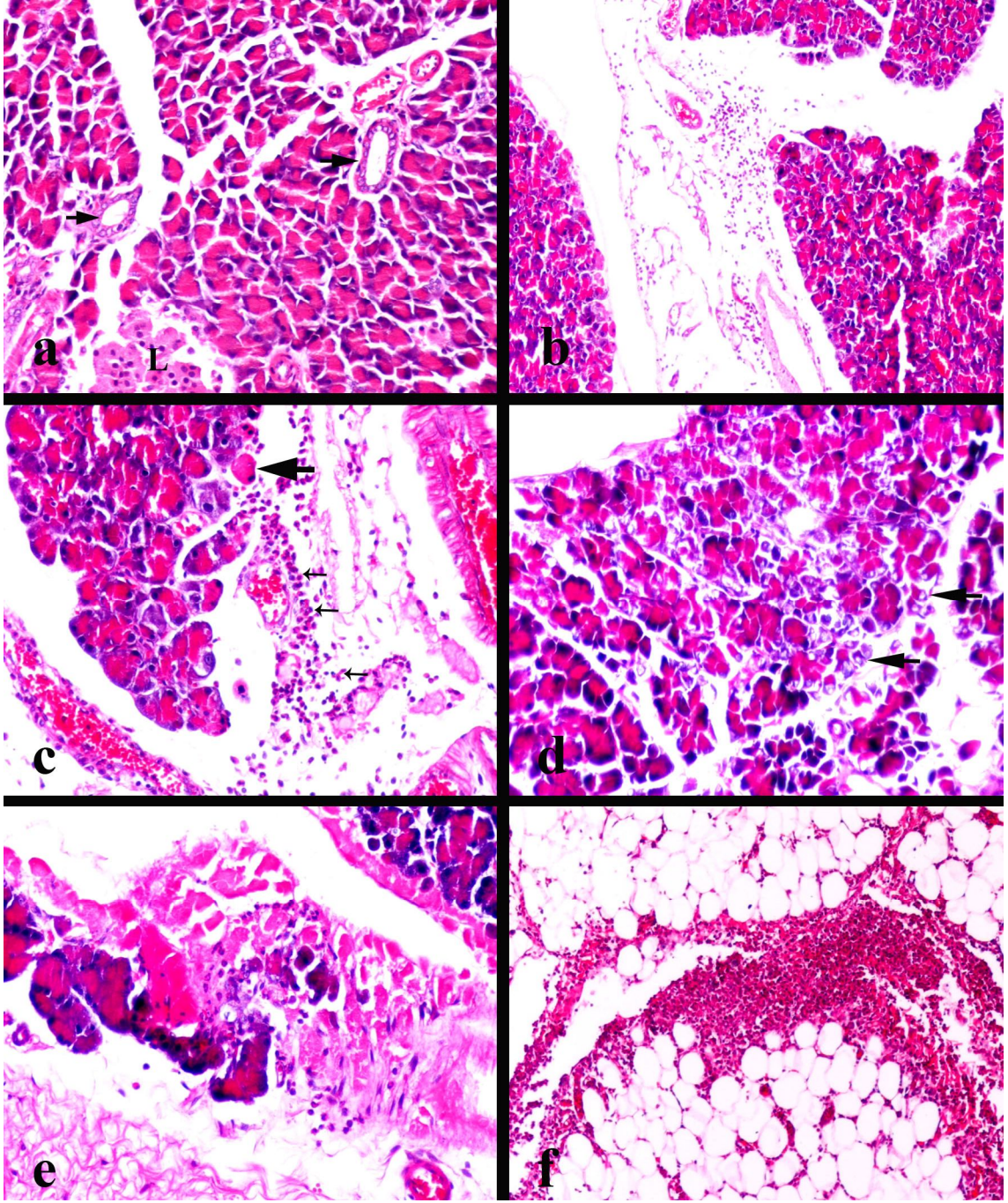
Tablo VIII :Gruplara göre histopatolojik skorlar (her grup için $n=10$)

| | K | C | CMe | CMg |
|----------------------------|---|----|-----|-----|
| ödem | 3 | 31 | 23 | 31 |
| inflamasyon | 1 | 34 | 28 | 33 |
| vakuolizasyon | 0 | 19 | 16 | 19 |
| nekroz | 0 | 10 | 7 | 11 |
| toplam histopatolojik skor | 4 | 94 | 74 | 94 |



Şekil 14 :Histopatolojik skorların gruplara göre grafiksel karşılaştırılması

(mavi:K grubu, kırmızı:C grubu, yeşil:CMe grubu , mor:CMg grubu)



Şekil 15: Işık mikroskopisinde çeşitli büyütmelerde pankreas dokuları.

- a)K grubunda** normal pankreas dokusunda duktuslar(oklar)ve langerhans adacığı(L),HE,x400
- b)CMe grubunda** ödemden dolayı interlobuler septumda inflamasyon ve genişleme,HE,x200
- c)CMe grubunda** inflamasyon(ince oklar) ve asinuslarda nekrotik değışiklikler(kalın ok),HE,x400
- d)C grubunda** pankreasda vakuolizasyon(oklar) ve nekroz,HE,x400
- e)C grubunda** pankreatik nekroz ve inflamasyon, HE, x400
- f)CMg gubunda** peripancreatik yağ dokusunda inflamasyon,(steatitis)HE,x40

5. TARTIŞMA

Akut pankreatit, pankreasın kendi enzimlerinin aktivasyonu, interstisyel sızması ve kendini sindirmesi sonucu oluşan, bakteriyel olmayan, karın ağrısı, bulantı, kusma ile kendini gösteren inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalık süreci, minimal ödemden hemorajik nekroza, endokrin ve ekzokrin fonksiyonların her ikisinin de önemli oranda azaldığı fibrozise kadar değişkenlik gösteren geniş bir spektrum içerir(16).

Tanımlanmasının üzerinden çok uzun zaman geçmiş olmasına rağmen spesifik bir tedavisi bulunamamış olan akut pankreatitte standart tedavi hala destek tedavisi tabanlıdır(87).

Akut pankreatit ile ilk deneysel çalışmayı 1856 yılında Claude Bernard köpeklerin pankreas kanalına zeytinyağı vererek yapmıştır. Bu ilk çalışmadan itibaren değişik tedavi yöntemlerinin denenmesi amacıyla birçok deneysel pankreatit modeli oluşturulmuştur(76). Akut pankreatit patofizyolojisine uygun olan ve en çok tercih edilen yöntemlerden birisi sekresyonun artırılmasıdır. Sekresyonun artırılmasında en çok kullanılan madde ise ceruleindir(10).

Cerulein sekresyon artırıcı etkisiyle birçok deneysel çalışmada başarı ile kullanılmıştır(91). Oddi sfinkterinde gevşeme ve safra kesesinde kontraksiyonlara neden olarak pankreas kanalına safra reflüsüne ve dolayısıyla da pankreatite yol açan bir kolesistokinin analogudur(9). İlk defa 1977 yılında Lampel ve Kern tarafından ratlarda deneysel olarak akut interstisyel pankreatit oluşturmak için kullanılmıştır (79). Cerulein farklı dozlarda ve farklı veriliş yollarında kullanıldığında değişik derecelerde akut pankreatite neden olmaktadır, yani etkisi doza ve zamana bağlıdır. Oluşturulmak istenen pankreatit şekline göre doz ve uygulama süresi belirlenir (85,86). Strowski ve arkadaşları birer saatlik intervallerle beş kez 10 mikrogram/kg dozlarda cerulein uygulamaları ratlarda akut ödematöz pankreatit oluşturmuşlardır(86). Kontrek ve arkadaşları da ratlarda 10 mikrogram/kg dozlarda subkutan cerulein uygulayarak akut ödematöz pankreatit oluşturmuşlardır. Yine literatürde ceruleinin 5 mikrogram/kg/saat iv.yoluyla 2- 24 saat kullanım akut ödematöz pankreatite neden olurken, 20 mikrogram/kg/saat intavenöz infüzyon yoluyla altı saat kullanım akut hemorajik pankreatite neden olduğu raporlanmıştır(78). 20 mikrogram/kg dozunda 2-4 kez intraperitoneal olarak uygulanması akut pankreatite neden olurken bir saat aralarla 40-

50 mikrogram/kg dozunda 2-4 kez intraperitoneal olarak uygulanması akut hemorajik nekrotizan pankreatite yol açmaktadır(83).Lampel ve arkadaşları Ceruleini ratlara birer saatlik intervallerle 4-6 kez subkutan 20-50mikrogram/kg aralıklarında uygulayarak çeşitli şiddetlerde akut pankreatit gerçekleştirmişlerdir(79). Steer ve arkadaşları birer saatlik intervallerle 5 defa subkutan 20 mikrogram/saat cerulein uygulayarak akut pankreatit oluşturmuşlar,pankreasların histopatolojik incelemelerinde hücresel düzeyde birçok patolojinin gerçekleştiğini bildirmişlerdir(84).

Cerulein uygulanan ratlarda pankreas makroskopik olarak büyümekte ve ödemli hale gelmektedir.Histolojik değişiklikler ceruleinin dozuna bağlı olarak biyokimyasal değişikliklerle koreledir.Ceruleinin 50 mikrogram/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulanması pankreasta maksimuma yakın hasarlanmaya neden olmakta ve ceruleinin dozunun artması hasarlanmayı belirgin olarak daha da kötüleştirmektedir.Subkutan ve intraperitoneal cerulein uygulamalarında en erken histolojik değişiklik ödem ve stoplazmik vakuollerdir.Pankreatit ilerledikçe bu vakuoller büyük boyutlara ulaşmaktadır.İnterstisyel inflamasyon ve asiner hücre nekrozu belirgin olarak ceruleinin uygulanmasını takiben saatler içinde başlar,on ikinci saatte maksimuma ulaşır ve çoğu kez dört gün içinde de kaybolur.Ceruleinin en efektif dozlarında pankreatitin gidişatı süresince asiner hücrelerin yaklaşık %40'ında şiddetli dejenerasyon yada nekroz gözlenebilmektedir.Pankreatitin gerilemesi sırasında göze çarpan en önemli histolojik değişiklik fokal atrofidir. Cerulein enjeksiyonlarından 5 hafta sonra fokal atrofi ve erken fibrozis ortaya çıkmaktadır.

Pankreas asiner hücrelerinin kaba endoplazmik retikulumunda sentezlenen proteinler golgi cisimciği tarafından kullanılacakları yere göre ayrılmaktadır. Sindirim enzimleri ve zimojenler, inaktif formlarında sekresyon için hazırlanmakta, lizozomal hidrolazlar ise hücre bileşenleri içine yerleştirilmektedirler. Cerulein bu aşamaları bozmakta ve her iki enzim grubu büyük immatür vakuoller içinde toplanmaktadır. Lizozomal bir enzim olan katepsin B' nin tripsinojeni aktive ederek sindirim enzimlerinin intrasellüler aktivasyonuna neden olabileceği düşünülmektedir (83,84).Sitoplazma içinde bulunan zimojen granüller içeriklerini lizozomlara boşaltırlar.Buna krinofaji denilmektedir. Sonuçta Cerulein uygulanmasıyla yaygın inflamasyon ve pankreatit görülmektedir(85).

Litaratürde de bahsedildiği gibi subkutan veya intraperitoneal Cerulein uygulanmasından sonra maksimum pankreatik hasar 12. saatte görülmektedir.(147). Biz de deneyimizde 20 mikrogram/kg Cerulein'i birer saatlik intervallerle 4 kez subkutan uyguladık ve ilk Cerulein dozundan sonra 12.saatte ratlar› sakrifiye ettik. Sadece Cerulein verilen grupta 10 ratın tamamında akut pankreatit oluştuğunu hem makroskopik olarak ,hem de histopatolojik olarak gözlemledik..Ratlar›n tümünde şiddetli ödem ve inflamasyon ,orta şiddette vakuolizasyon ve minimal asiner nekrotik hasar oluştu.Bu histopatolojik değişiklikleri Schönberg'in pankreatit skorlama indeksine göre değerlendirdik ve ödem,inflamasyon,vakuolizasyon ve nekroza hafiften şiddetliye doğru 0 ila 4 arasında skorlar verdik(91). Bu skorlar›n toplam›na bakarak ratların pankreasındaki hasarın şiddetini değerlendirdik.

Montelukast, zafirlukast ve pranlukast y›llard›r klinik kullan›mda olan lisanslı sisteinil lökotrien reseptör antogonistleridir(90). Lökotrienler arasıdonik asitten 5-lipooksigenaz yoluyla sentezlenen etkin biyolojik proinflamatuvar medyatörlerdir. Sisteinil lökotrienler daha çok mast hücresi bazofil ve endotel hücrelerinden sal›n›rlar. Vazokonstrüksiyon ,damar geçirgenliğinde artış,dokuda inflamatuvar hücre birikimine sebep olurlar(90). Postkapiller venüllerden plazma s›v›s›n›n dokuya s›zmas›na ve dolayısıyla ödeme neden olurlar.Bu etkilerini hücre membranında yerleşmiş kendilerine özgü reseptörleri aktive etmek suretiyle yaparlar(89). Montelukast ise bir sisteinil lökotrien reseptör antogonisti olarak kompetatif etki ile sisLT1 reseptörlerini bloke eder ve lökotrienlerin inflamasyondaki etkilerini engeller(88). Uzunca süredir ast›m ve alerjik rinit tedavisinde kullan›lmakta olan sisteinil lökotrien reseptör antogonistleri hakkında son zamanlarda başka hastalıklarda da kullanılabilirliğini araştırmak adına çok sayıda çalışma yapılmıştır.Çıkan sonuçlara göre bu ilaçların inflamatuvar süreçle kendini gösteren pek çok başka hastalıkta da kullanılabileceği konusunda görüş birliğine varılmıştır. Migren, kistik fibrozis, bazı malignensiler, aterosikloroz, inflamatuvar barsak hastalığı, gastrit bu hastalıklardan bazılarıdır(88). Montelukastın böbrek ve karaciğer dokusunda iskemi-reperfüzyon hasar›n› önlediği,inflamatuvar barsak hastalığında inflamasyonu baskıladığı,midede mukoza hasarını azalttığı ve koruyucu etki yaptığı,deri flebi yaşayabilirliğini artırdığı,pulmoner fibrozisi engellediği,psoriasisdeki inflamasyonu azalttığı,Behçet artritinde inflamasyonu baskıladığı yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır(89).

Hotter ve arkadaşları lökotrien infüzyonu uyguladıkları ratların pankreaslarında ödemin ve polimorfonükleer infiltrasyonun arttığını hemotoksilen eosin ile boyalı preparatlarda göstermişlerdir(104). Folch ve arkadaşları deneysel akut pankreatit modelinde lökotrienlerin arttığını göstermişlerdir.(105). Bütün bu çalışmaların ışığı altında lökotrienlerin akut pankreatit patogenezinde rol oynadığı anlaşılmış ve lökotrien reseptör antagonistleriyle bunun önlenebileceği fikri doğmuştur. Sisteinil lökotrien reseptör antagonistlerinin akut pankreatitin tedavisinde, şiddetinin azaltılmasında yada akut pankreatitin önlenmesinde etkili olabileceği düşünülerek deneysel çalışmalar yapılmıştır. Hirano , bir sisteinil reseptör antagonisti olan Pranlukast'ın ratlarda pankreatik ödemi azalttığını bildirmiştir. Ceruleinle pankreatit oluşturmadan önce pranlukast uyguladığı ratların pankreaslarının histopatolojik incelemesinde pankreatik ödemin ve vakuolizasyonun kontrol grubuna göre daha düşük çıktığını ,mikrovasküler kaçağın azaldığını ve yine amilaz seviyelerinin de kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük çıktığını bildirmiştir(103). Bir başka lökotrien reseptör antagonisti olan Zafirlukast'la yapılan bir çalışmada ise Oruc ve arkadaşları Hirano'nun çalışmasıyla çelişen sonuçlar bildirmişlerdir.Oruc'a göre Zafirlukast verilen grupta yağ nekrozunda ve toplam histopatolojik skorda belirgin artış gözlenmiş,amilaz düzeyleri arasındaki fark anlamlı çıkmamıştır (106).Birbiriyle çelişen bu sonuçlardan sonra biz de daha önce hiç çalışılmamış bir lökotrien reseptör antagonisti olan Montelukast'ın deneysel akut pankreatit modeli üzerindeki etkilerini çalışmaya karar verdik.Montelukast'ı bir grupta Cerulein'den önce ,farklı bir grupta da Cerulein'den sonra vererek etkilerini inceledik.Ceruleinden sonra bir lökotrien reseptör antagonisti vermek daha önce yapılan hiçbir çalışmada denenmemiştir. Ceruleinden önce verdiğimiz gruptaki biyokimyasal değerler ve histopatolojik skorlar Hirano'nun çalışmasındakine benzer şekilde pankreatit grubu olan sadece Cerulein verilen gruptan anlamlı şekilde farklı çıktı. Ancak bu sonuç ,pankreatiti önledi anlamına gelemedi ,çünkü kontrol grubuyla karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. Buradan çıkaracağımız sonucu şu şekilde yorumlayabiliriz;Montelukast uygulamasıyla akut pankreatit oluşması engellenemedi, ancak oluşan pankreatitin histopatolojik skoru Montelukast uygulanmayan gruptan anlamlı derecede düşük çıktı,bir diğer deyişle oluşan pankreatitin şiddeti azaldı. Diğer yandan Cerulein'den sonra Montelukast uyguladığımız grupta ise Cerulein grubuyla kıyaslandığında gerek biyokimyasal

gerekse histopatolojik olarak anlamlı bir fark çıkmadı. Bu sonuçlara göre diyebiliriz ki lökotrien reseptör antagonistlerinin akut pankreatit gelişikten sonra uygulanmasının prognoz üzerine bir etkisi yoktur.

Elman ve arkadaşları 1929 yılında akut pankreatitli hastalarda serum amilaz ölçümünün değerini tanımlamıştır. Günümüzde de en sık kullanılan tanısal testtir (93,95). Akut pankreatit başlangıcında serum amilaz konsantrasyonu birkaç saat içinde yükselir ve 3-5 gün içinde normale döner. Bu nedenle amilaz akut pankreatitli hastalarda diagnostik kriter olarak kullanılmakta, hastaların takibinde kullanılmamaktadır. Serum amilaz düzeyinin ne hastalığın şiddetiyle bir korelasyonu ne de prognostik bir değeri vardır. Hiperlipidemi varlığında amilaz ölçümü yanlış sonuçlar verme eğilimindedir (101,102). Serum amilazı içi boş organların delinmesi, mezenter damarlarının tıkanması, barsak tıkanması gibi batında iltihaba yol açan diğer durumlarda, ayrıca kabakulak, böbrek yetmezliği, afferent ans sendromu, diabetik ketoasidoz, alkolizm, safra yolları hastalıkları, makroamilazemi ve nadiren de morfin analogların kullanılması gibi durumlarda da yükselebilmektedir. Eskiden değişik testler arasında en kolay uygulanan ve en spesifik olan olarak kabul edilen serum amilaz, bugün için çok da spesifik kabul edilmemektedir. Kemppainen ve arkadaşlarının çalışmasında serum amilazının akut pankreatit tanısındaki spesifitesi %91, sensitivitesi %85 olarak bulunmuştur (51). Treacy ve arkadaşlarının çalışmasında ise spesifitesi %97, sensitivitesi %45 olarak bulunmuştur (41). Amilaz aktivitesi sadece pankreas kaynaklı değildir. Myokard, tükürük bezi, karaciğer, barsak ve kas dokularında, fallop tüpleri ve akciğerde de önemli miktarlarda amilaz varlığı tespit edilmiştir (96). Serum amilazın pankreas (p-tip) ve tükürük bezi (s-tip) kaynaklı olmak üzere iki tip izoenzimi vardır. Pankreatik izoamilaz akut ve kronik pankreatit, pankreas absesi, pankreatik psödokist, pankreas tümörleri, pankreatik asit, pankreas travması, ERCP sonrası, koledokolitiazis, duodenum ülser perforasyonu, mezenter arter oklüzyonu, ileus, akut veya kronik böbrek yetmezliğinde yüksek saptanabilir (97). Pankreatik izoamilazın akut pankreatit için spesifitesi ve sensitivitesi total amilazdan daha yüksektir (96,97). Biz de bu çalışmamızda pankreatik amilazı kullanmayı tercih ettik. 12. saatte alınan kan analizlerinde sadece Cerulein verilen gruptaki (C grubu) pankreatik amilaz düzeyleri kontrol grubuna (K grubu) oranla anlamlı şekilde artmış izlendi. Önce Montelukast sonra Cerulein verilen grubun (CMe grubu) pankreatik amilaz düzeyleri ise C grubuyla

karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalmış,K grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmış izlendi.Önce Cerulein sonra Montelukast verilen grubun(CMg) pankreatik amilazları ise K grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmış izlenirken,C grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark izlenmedi.

Serum lipaz'ın büyük bir kısmı pankreas kaynaklıdır.Akut pankreatit tanısında serum amilaz'na göre daha sensitif ve daha spesifiktir(98-100). Lipaz'ın en önemli avantajı amilaza göre enzim aktivitesinin uzunca bir süre yüksek olarak kalmasıdır.Özellikle alkol kaynaklı pankreatitte amilazdan daha şiddetli şekilde artış gösterir.(100)Bizim çalışmamızda lipaz değerleri C grubunda K grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır.CMe grubunda K grubuna göre anlamlı şekilde artmış,C grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır.CMg grubunda K grubuna göre anlamlı şekilde artmış,C grubuna göre anlamlı fark gözlenmemiştir.Gruplar arasında lipaz değerlerinde olan anlamlı farklar pankreatik amilaz değerlerinde olan farklarla benzeşmektedir.

Çalışmamızdaki lökosit ve hematokrit sonuçlarına baktığımızda C grubuyla K grubu arasında anlamlı fark gözlenirken,C grubuyla CMe ve CMg grupları arasında anlamlı bir fark çıkmamıştır.Buradan Montelukast'ın akut pankreatit sürecinde gerek erken gerekse geç uygulanmasının lökosit ve hematokrit değerleri üzerine bir etkisi olmadığı sonucunu çıkarabiliriz.Kan gazı sonuçlarına baktığımızda ise CMe grubuyla C grubu karşılaştırıldığında pH,pCO₂,pO₂,HCO₃ değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır.CMg grubuyla C grubu karşılaştırıldığında bu parametrelerin hiçbirinde anlamlı bir fark çıkmamıştır.Bu verilere göre Cerulein'den önce verilen Montelukast'ın pankreatitte kan gazları üzerine olumlu sonuçları vardır ,Ceruleinden sonra verilen Montelukast'ın pankreatitte kan gazları üzerinde anlamlı bir etkisi yoktur diyebiliriz.

Montelukastın erken uygulandığı grupta pankreatik su içerikleri ,Cerulein grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde azalmıştır.Montelukastın geç uygulandığı grupta ise kontrol grubuyla kıyaslandığında su içerikleri arasındaki fark anlamlı değildir.Kontrol grubuyla Cerulein grubu arasındaki fark da anlamlı olduğuna göre buradan ; Montelukast'ın erken uygulamak pankreasın su tutmasını yani ödemi azaltmaktayken geç uygulamanın bir anlamı yoktur sonucunu çıkarabiliriz.

Histopatolojik,biyokimyasal,hematolojik ve su içeriklerinin ölçülmesiyle elde edilen sonuçları tümüyle değerlendirecek olursak çalışmamızdan çıkacak sonuçlar

şunlardır;Lökotrien reseptör antogonistlerinin akut pankreatitin geç döneminde kullanılmasının pankreatiti iyileştirici yada şiddetini azaltıcı hiçbir etkisi yoktur. Akut pankreatit oluşmadan önce kullanılacak olan lökotrien reseptör antogonistleri pankreatit oluşmasını engellemese de oluşacak olan pankreatitin şiddetini azaltmaktadır.Bu bize lökotrien reseptör antogonistlerinin ileride akut pankreatitin erken dönemlerinde pankreatitin şiddetini azaltmak için yada ERCP gibi pankreatit riski taşıyan süreçlerde profilaktik olarak kullanılması konusunda umut vermektedir.

Uygulanacak olan lökotrien reseptör antogonistinin; gerek uygulamaya başlama zamanında,gerek uygulama süresinde ve dozunda ,gerekse deney sürelerinde farklı varyasyonların kullanılacağı ,hatta başka antiinflamatuvar ilaçlarla kombinasyonların deneneceği yeni çalışmalarla akut pankreatitin erken dönemlerinde yada profilakside olumlu sonuçlar verebileceğini düşünmekteyiz.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Ratlara birer saat aralarla 4 kez 20 mikrogram/kg subkutan Cerulein uygulanmasıyla ödemden nekroza kadar farklı histopatolojik şiddetlerde akut pankreatit oluşmaktadır.

Montelukast'n ; Cerulein ile akut pankreatit indüksiyonu yapılmadan önce kullanılmasıyla pankreatik hasarı tamamen önlemese de anlamlı bir şekilde azalttığı görülmüştür.Bu etkiler gerek pankreasın su içerik yüzdesi, gerek kan gazları ,gerek hematolojik ve biyokimyasal değerler,gerekse histopatolojik skor olarak gösterilmiştir.

Montelukast'n ; Cerulein ile akut pankreatit indüksiyonu yapıldıktan sonra kullanılmasıyla oluşan pankreatik hasarda hiçbir anlam ve fark oluşmamaktadır.

Bu sonuçlar bize Montelukast'n ileride akut pankreatitin erken evresinde yada akut pankreatit riski taşıyan süreçlerde profilaktik olarak kullanılabileceği ; pankreatiti tamamen önlemese de ,oluşacak pankreatik hasarı azaltabileceği yönünde umut vermiştir.Ancak bunun için daha kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.Yapılacak bu çalışmalarda özellikle ;uygulamaya başlama zamanı, uygulama süresi, uygulama dozu ve hatta additif etkisinden yararlanılmak üzere beraberinde kombine edilebilecek başka ilaç seçeneklerinin üzerinde durulması gerekmektedir.

7.KAYNAKLAR

1. **Glazer G.** Contentious issues in acute pancreatitis. Acute pancreatitis. Experimental and clinical aspects of pathogenesis and management. 1st ed. London: Bailliere Tindall **1988**;1-36.
2. **Austin JL, Reber HA.** Pathophysiology of acute pancreatitis. In: Howard J.M., editor. Surgical Diseases Of The Pancreas.1 st ed. Washington: Lea & Feiberg **1987**; 377-38.
3. **Leach SD, Gorelick FS, Modlin JM.** Acute pancreatitis at its centenary; The contribution Reginald. Fitz Ann Surg **1990**; 19: 779-786.
4. **Yeo CJ, Cameron JL.** The pancreas. Sabiston Textbook of Surgery. 16th ed. Philadelphia: W.B. Saunders. **2001**; 116-125.
5. **Broe PJ, Cameron JL.**Experimental gallstone pancreatitis:patogenesis and response to different traetment modalites.Ann Surg **1982**;195:566.
6. **Sanfey H, Sarr MG,Bulkley GB,Cameron JL.**Oxygen-derived free radicals and acute pancreatitis: a review.Acta Physiol Scand **1986**;548(Suppl):109-18.
7. **Sanfey H, Bulkey GB, Cameron JL.**The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis.Ann.Surg.**1984**;200:405-443.
8. **Nonaka A, Manebe T, Kyogoku T, Tamura K, Tobe T.**Evidence for a role of free radicals by synthesized scavenger, 2-octadecylascorbic acid, in cerulein-induced mouse acute pancreatitis.Dig.Dis.Sci.**1992**;37(2):274-9.
9. **Manuel A, Manso PD, Jose I, San R.** Caerulein induced acute pancreatitis in the rat. Dig Dis Sci. **1992**; 37:364-368.
10. **Gorelick FS, Adler G, Kern HF.**Cerulein-induced pancreatitis.The pancreas, biology, pathobiology and disease.2 nd ed.New York:Raven, **1993**;501-52.
11. **Guice Ks, Miller DE, Oldham KT, Townsend CM, Thompson JC.** Superoxide dismutase and catalase: a possible role in established pancreatitis. Am J Surg.**1986**;151:163-9.
12. **Bulkley GB.**Pathophysiology of free radical mediated reperfusion injury. J. Vasc. Surg. **1987**; 5:512-17.
13. **Soon HU,Yong DK, Chang DK.**The role of Nitric oxide in Experimental cerulein induced pancreatitis. J Korean Med Sci; **2003**;18:520-526.

14. **Vollmar B, Waldner H, Schmand J, Conzen PF.** Release of arachidonic acid metabolites during acute pancreatitis in pigs. *Scand J Gastroenterology* **1989**;24:1253-1264.
15. **G. Riccioni, T. Bucciarelli, B. Mancini, C. D. Ilio, N. D' Orazio.** Antileukotriene Drugs: Clinical applications, effectiveness and safety. *Current Medicinal Chemistry* **2007**;14:1966-1977.
16. **Sayek İ.** Temel Cerrahi 3. Baskı **2004**; 1409-1417.
17. **Yeo CJ, Cameron JL.** Acute pancreatitis. Sabiston DC, editor. *Textbook of Surgery*. 15th ed. W.B. Saunders Company **1997**; 1156-1165.
18. **Ranson JHC.** Acute Pancreatitis. Zinner MJ, Schwartz SI, Ellis H, editors. *Maingot's Abdominal Operations*. 10th ed. Appleton & Lande **1997**; 1899-1905.
19. **Ünal Hilal.** Akut Pankreatit. Minkari T, Ünal G, Kafadar Y, editor. *Pankreas Cerrahisi*. İstanbul Logos **1991**; 119-137.
20. **Fitz R.** Acute pancreatitis. *Boston Med Surg J* **1889**;120:181-229.
21. **Moynihan B;** Acute pancreatitis. *Ann Surg* **1925** ;81:132.
22. **Schwartz,** *Textbook Principles of Surgery*, 8.ed. **2005** ;1222-1296.
23. **Edward L Bardley.** Indications for Surgery in Necrotizing Pancreatitis- A Millennial Review. *Pancreas* **2001**;1:1-3.
24. **Reber HA, Way LW:** Pancreas. Current surgical diagnosis and treatment. *Textbook, Lawrence W. Way, 8. edition* **1988**; 517-530.
25. **Russel G, Postier MD.** Past, present, and future of pancreatic surgery. *Am J Surg* **2001**; 182: 547-55.
26. **Bradley EL, Zeppa RB:** The Pancreas in textbook of surgery D.C. Sabiston (Ed) WB Saunders Co, Igaku-Shoin 13 th Edition, **1986**; 1: 1170 -1187.
27. **Cameron JL:** Acute pancreatitis: Surgery of the alimentary tract. Philadelphia, **1983**; 4:31-61.
28. **Potts JR:** Acute pancreatitis. *Surg. Clin. North Am.* **1988**; 68: 281 -299.
29. **Steer ML:** Classification and pathogenesis of acute pancreatitis. *Surg. Clin. North Am.* **1989**; 69: 487-481.
30. **Jones BA, Salsberg BB, Bohnen JMA:** Common pancreaticobiliary channels and their relationship to gallstone size in gallstone pancreatitis. *Ann. Surgery*, **1987**; 205: 123 -125.

31. **Kelly TR:** Gallstone pancreatitis. Pathophysiology Surgery, **1976**; 80: 488-492.
32. **Acosta JM, Ledesma CL:** Gallstone migration as a cause of acute pancreatitis. N. Eng.J.Med. **1974**; 290: 484.
33. **Peterson L:** Acute pancreatitis occurring after operation.Surg.Gynecol. Obstet., **1968**; 127: 23-28.
34. **Thompson S:** Postoperative pancreatitis. Surgery **1988**; 167.
35. **Vernava A:**Pancreatitis after biliary tract surgery.Arch Surg.,**1987**;122:575-580.
36. **Broe PJ:** The role of ischemia in acute pancreatitis. Surgery **1982**; 91: 377 -382.
37. **Warshaw AL, Swanson RS:** Susceptibility of the pancreas to ischemic injury in shock. Ann. Surgery **1978**; 188: 197-201.
38. **Nguyen BLT, Thompson JS, Edney JA:** Influence of the etiology of pancreatitis on the natural history of pancreatic pseudocysts. Am J Surg. Dec **1991**; 162: 527 - 531.
39. **O'Sullivan JN:** Acute and chronic pancreatitis in Rochester, Minnesota, between 1940 -1969, Gastroenterology **1972**; 62: 373.
40. **Sabiston D.** Textbook of surgery. Fourteenth edition. 1076-1108.
41. **Yılmaz U, Gören A.** Yoğun bakım sorunları ve tedavileri 2th ed. **1991**
42. **Anderson .** Anderson's pathology. 9th ed. **1990**.
43. **Kumar, Robins.** Pathologic basis of disease. 4th ed.**1987**.
44. **Norton J A.** Pancreas. Mulvihill S J. Surgery Basic Science and Clinic**1990**; Spriger-Verlag 1st ed: 517-584.
45. **Shackelford R T, Zuidema G D.** Surgery of the Alimentary Tract. 2nd ed, W B Saunders Co. **1983**.
46. **Buchler M W, Uhl W, Friess H, Malfertheiner P.** Acute Pancreatitis, Novel Concepts in Biology and Therapy. 1st ed, Bern: Blackwell; **1999**.
47. **Buchler M, Malfertheiner P, Schadlich H, Nevallainen T J, Freiss H.** Role of phospholypas A₂ in human acute pancreatitis.Gastroentorology,**1989**; 97:1521-1526.
48. **Çalangu S,Güler K** Acil Dahiliye **1995**:335-357.
49. **Clavien PA, Burgan S, Moossa AR.** Serum enzymes and other laboratory tests in acute pancreatitis. Br J Surg **1988**; 76: 1234-43.

50. **Pekmezci S, Sarıbeyoğlu K.** Akut pankreatit: Etiyoloji, klinik, tanı komplikasyonu ve medikal Tedavi. *Aktüel Tıp Dergisi* **2000**; 5: 20-30
51. **Kempainen EA, Hedström JI, Puolakkainen PA, Sainio VS, Haapianen RK.** Rapid measurement of urinary trypsinogen -2 as a screening test for acute pancreatitis. *N Eng J Med* **1997**; 336:1788-1793.
52. **Hedström JI, Korvuo A, Kenkimaki P.** Urinary Trypsinogen test strip for acute pancreatitis. *The Lancet* **1996**; 345: 729 -731.
53. **Hedström JI, Sainio V, Kempainen E.** Urinary trypsinogen -2 as a marker of acute pancreatitis. *Clin Chem* **1996**; 42: 685-690.
54. **McKay CJ, Imrie CW.** Staging of Acute Pancreatitis, is it important? *The Surgical Clinics of North America* **1999**; 7: 733-743.
55. **Chen CC, Wang SS.** Proinflammatory cytokines in early assessment of the prognosis of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* **1999**; Jan 94 (1): 213-218.
56. **Baillargeon JD .** Hemoconcentration as an early risk factor for necrotizing pancreatitis. *Am J Gastroenterol* **1998**;11: 2130 -2134.
57. **Gross V, Scholmerich J, Leser HG.** Granulocyte elastase in assessment of severity of acute pancreatitis: Comparison with acute phase proteins, C –Reactive protein, α antitrypsin and protease inhibitor α -2-macroglobulin. *Dig Dis Sci* **1990**; 35: 97-105.
58. **Dominguez-Munoz C, Carballo F, Garcia MJ.** Clinical usefulness of polymorphonuclear elastase in predicting the severity of acute pancreatitis: Result of a multicentre study. *Br J Surg* **1991**; 78: 1230 -1234.
59. **Gudgeon MA, Heath DI, Hurley P.** Trypsinogen activation peptide assay in the early prediction of severity of acute pancreatitis. *The Lancet* **1990**;335:4-8.
60. **Heath DI, Wilson C, Gudgeon MA.** Trypsinogen activation peptide concentration in the peritoneal of patients with acute pancreatitis and they relation to the presence of histologically confirmed pancreatic necrosis. *Gut* **1999**; 35:1311 -1315.
61. **Fan Sheung.** Prediction of the severity of acute pancreatitis. *Am J Surg* **1993**; Sep 166 (3): 262-268.
62. **Heath DI, Cruickshank A, Gudgeon MA.** Role of interleucin 6 in mediating the acute phase protein response and potential as an early means of severity assessment in acute pancreatitis. *Gut* **1993**; 34: 41 -45.

63. **Leser HG, Gross V, Scheibenbogen C.** Elevation of serum interleucin 6 concentration precedes acute phase response and reflects severity in acute pancreatitis. *Gastroenterology* **1991**; 101: 782 -785.
64. **Viedma JA, Perez-Mateo M, Dominguez JE.** Role of interleucin 6 in acute pancreatitis: Comparison with C- Reactive protein and phospholipase A. *Gut* **1992**; 33: 1264-1267.
65. **Thal A.** Studies on pancreatitis. II. Acute pancreatic necrosis produced experimentally by the Arthus sensitization reaction. *Surgery* **1955**; 37: 911-17.
66. **Thal A, Brackney E.** Acute hemorrhagic pancreatic necrosis produced by a local Schvartzmann type reaction. Experimental study on pancreatitis. *JAMA* **1954**; 155: 569-74.
67. **Nevalainen TJ.** Pancreatic injury caused by intraductal injection of foreign serum in the rat. *Virchows Arch B Celi Pathol* **1978**; 27: 89-98.
68. **Seidel H.** Bemerkungen zu meiner Methode der experimentellen Erzeugung der akuten hamorrhagischen Pankreatitis. *Zentralbl Chir* **1910**;37:1601-4.
69. **Pfeffer RB, Stasior O, Hinton JW.** The clinical picture of the sequential development of acute hemorrhagic pancreatitis in the dog. *Surgical Forum* **1957**;8:248-51.
70. **Sahana P, Margolis S, Zuidema GD, Cameron JL.** Acute pancreatitis with hyperlipaemia:studies with an isolated perfused canine pancreas.*Surgery* **1977**; 82:60-7.
71. **Schiller WR, Suriyapa C, Anderson MC.** A review of experimental pancreatitis. *JSurgRes.* **1974**; 16:69-90.
72. **Buchler M, Friess H, Uhl W, Beger HG.** Clinical relevance of experimental acute pancreatitis. *Eur Surg Res.* **1992**; 24(suppl 1):85-8.
73. **Wilson C, Imrie CW.** Experimental models of acute pancreatitis. *Springer* **1992**:227-39.
74. **Steinberg WM, Schlesselman SE.** Treatment of acute pancreatitis. Comparison of animal and human studies. *Gastroenterol.* **1987**; 93:1420-7.
75. **Klar E, Messmer K, Warshaw AL, Herfarth C.** Pancreatic ischaemia in experimental acute pancreatitis: mechanism. Significance and therapy. *Br J Surg.* **1990**; 77:1205-10.

76. **Banerjee AK, Galloway S W, Kingsnorth AN.** Experimental models of acute pancreatitis: review. *Br J Surg.* **1994**; 81:1096-1103.
77. **Anastasi A, Erspamer V, Endean R.** Isolation and structure of cerulein, an active decapeptide from skin of *Hyla caerulea*. *Experimentia* **1967**;15:699-704.
78. **Akçakanat A, Hamaloğlu E, Özenç A.** Deneysel akut pankreatit modelleri. *Klin Deneysel Cerrah Derg* **1997**;5:185-198.
79. **Lampel M, Kern HF.** Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch Path Anat Histol* **1977**;373:97-117.
80. **Baxter JN, Jenkins SA.** Effect of somatostatin and a long acting somatostatin analogue on the prevention and treatment of experimentally induced acute pancreatitis in the rat. *Br J Surg* **1985**;72:382-385.
81. **Adler G, Hupp T, Kern HF.** Course and spontaneous regression of acute pancreatitis in the rat. *Virchows Arch Path Anat Histol* **1979**; 382:31-36.
82. **Willemer S, Ellsasser HP, Adler G.** Hormone induced pancreatitis. *Eur Surg Res* **1992**;24:29-39.
83. **Watanabe O, Baccino M, Steer ML.** Supramaximal cerulein stimulation and ultrastructure of rat pancreatic acinar cell: Early morphological changes during development of acute pancreatitis. *Am J Physiol* **1984**;246:457-467.
84. **Satio I, Hashimoto S, Saluja A.** Intracellular transport of pancreatic zymogens during cerulein supramaximal stimulation. *Am J Physiol* **1987**;251:517-526.
85. **Steer ML, Meldolesi J.** The cell biology of experimental pancreatitis. *N Eng J Med* **1987**;316:144-150.
86. **Strowski MZ, Sparmann G, Weber H, Fiedler F.** Cerulein induced pancreatitis increase mRNA but reduces protein levels of rat pancreatic heat shock proteins. *AJP Gastrointestinal and liver physiology* **1997**;273:937-945.
87. **Barlas A, Cevik H, Arbak S, Bangir D, Sener G, Yege C, Yegen BC.** Melatonin protects against pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats: role of neutrophils. *J Pineal Res.* **2004**;37:267-275.
88. **Riccioni G, Bucciarelli T, Mancini B.** Antileukotriene drugs: Clinical application, effectiveness and safety. *Current Med Chemistry* **2007**, 14, 1966-1977.

89. **Capra V, Abrasio M, Rovati G.** Cysteinil-leukotriene receptor antagonists; present situation and future opportunities. *Curr Med Chem* **2006**;13:3213-3226.
90. **Kayaalp O.** *Tıbbi Farmakoloji* 10. Baskı **2002**;713-1456.
91. **Schönenberg MH, Büchler M, Gaspar M, Stinner A.** Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. *Gut* **1990**;31:1138-1143.
92. **Foitzik T, Bassi DG, Schmidt J.** Intravenous contrast medium accentuates the severity of acute necrotizing pancreatitis in the rat. *Gastroenterology* 1994;106(1):207-214.
93. **Smotkin J, Tenner S.** Laboratory diagnostic tests in acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* **2002**; 34: 459-462.
94. **Treacy J, Williams A, Bais R, Willson K, Worthley C, Reece J.** Evaluation of amylase and lipase in the diagnosis of acute pancreatitis. *ANZ J Surg* **2001**; 71: 577- 582.
95. **Elman R, Arneson N, Graham EA.** Value of blood amylase estimation in the diagnosis of pancreatic disease; clinical study. *Arch surg* **1929**; 19: 943-946.
96. **Durr GH.** Value of pancreatic serum enzyme determination for diagnosis of acute pancreatitis. *Springer* **1986**;2: 84-91.
97. **Koehler DF, Eckfeldt JH, Levitt MD.** Diagnostic value of routine isoamylase assay of hyperamylasemic serum. *Gastroenterology* **1982**; 82: 887-891.
98. **Eckfeldt JH, Levitt M.D.** Diagnostic enzymes for pancreatic disease. *Clin Lab Med* **1989**; 9: 731-734.
99. **Gumaste V, Roditis N, Metha D, Dave P.B.** Serum lipase levels in nonpancreatic abdominal pain versus acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* **1993**; 88: 2051-2054.
100. **Clavien PA, Burgan S, Moosa AR.** Serum enzymes and other laboratory tests in acute pancreatitis. *Br J Surg* **1989**; 76: 1234-1238.
101. **Stefanini P, Ermini M, Carboni M.** Diagnosis and management of acute pancreatitis. *Am J Surg* **1965**; 110: 866-869.
102. **Warshaw AL, Bellini CA, Lesser PB.** Inhibition of serum and urine amylase activity in pancreatitis with hyperlipemia. *Ann Surg* **1975**; 182: 72-76.
103. **Hirano T.** Peptide leukotriene receptor antagonist diminishes pancreatic edema formation in rats with cerulein induced acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* **1997**;32:84-88.

- 104. Hotter G, Closa D, Prats N, Pi F, Gelpi E, Catafau JR.** Free radical enhancement promotes leucocyte recruitment through a PAF and LTB₄ dependent mechanism. *Free Radical Biology & Med.* **1997**;22-6:947-954.
- 105. Folch E, Closa D, Prats N, Gelpi E, Catafau JR.** Leukotriene generation and neutrophil infiltration after experimental acute pancreatitis. *Inflammation.* **1998**;22:83-93.
- 106. Oruc N, Yukselen V, Ozutemiz O, Yuce G, Celik H, Musaoglu A, Batur Y.** Leukotriene receptor antagonism in experimental acute pancreatitis in rats. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* **2004**;16:383-388.