

**T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA CERULEİN İLE OLUŞTURULAN
AKUT PANKREATİT MODELİNDE
ADALİMUMAB'IN DÜŞÜK VE YÜKSEK
DOZLARDA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYHAN AKPINAR

ANKARA – 2009

**T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA CERULEİN İLE OLUŞTURULAN
AKUT PANKREATİT MODELİNDE
ADALİMUMAB'IN DÜŞÜK VE YÜKSEK
DOZLARDA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYHAN AKPINAR

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. CENAP DENER**

**Bu uzmanlık tezi Fatih Üniversitesi tarafından P53010808-1 proje numarası ile
desteklenmiştir.**

ANKARA – 2009

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
İÇİNDEKİLER	i
TABLOLAR DİZİNİ	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pankreas Anatomisi.....	3
2.1.1. Sıçan pankreas anatomisi	3
2.2. Pankreas Histolojisi ve Fizyolojisi	3
2.3. Akut Pankreatit	5
2.3.1. Etyoloji	6
2.3.2. Patogenez	9
2.3.3. Fizyopatoloji	11
2.3.3.1. Akut ödematöz pankreatit	12
2.3.3.2. Akut nekrotizan pankreatit	12
2.3.4. Tanı	13
2.3.4.1. Semptom ve klinik bulgular	13
2.3.4.2. Laboratuvar bulgular	14
2.3.4.3. Radyolojik bulgular	16
2.3.5. Prognostik kriterler	17
2.3.6. Tedavi	18
2.3.6.1. Cerrahi Dışı Tedaviler	18
2.3.6.2. Cerrahi Tedavi.....	22
2.3.7. Komplikasyonlar	22
2.4. Çalışmada kullanılan parametreler	23

2.4.1. Tümör nekroz faktör alfa	23
2.4.2. Myeloperoksidaz	24
2.4.3. Adalimumab	25
3. MATERYAL VE METOD	26
3.1. Hayvanlar	26
3.2. İlaçlar	26
3.3. Deneysel Akut Pankreatit Modeli Oluşturulması	27
3.4. Çalışma Grupları	27
3.5. Doku ve Biyokimya Örneklerinin Alınması	28
3.6. Histopatolojik İncelemeler	28
3.7. Biyokimyasal İncelemeler	30
3.7.1. Serum Amilaz, Lipaz	30
3.7.2. CRP	30
3.7.3. Lökosit sayımı	30
3.7.4. Serum TNF- α	30
3.7.5. Doku Myeloperoksidaz ölçümü	30
3.8. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	32
4.1. Biyokimyasal Bulguları	32
4.1.1. Serum ve Plazma İnceleme Bulguları	32
4.1.2. Pankreas dokusu MPO düzeyi.	35
4.2. Histopatolojik Bulgular	35
5. TARTIŞMA	39
6. KAYNAKLAR	45

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 1: Akut Pankreatitte Etiyolojik Faktörler	8
Tablo 2: Hiperamilazemi nedenleri	15
Tablo 3: Akut Pankreatit'in komplikasyonları	23
Tablo 4: Pankreas Histopatolojik Skorlaması	29
Tablo 5: Biyokimyasal bulgular	32
Tablo 6: Histopatolojik bulgular	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 1. İntraperitoneal Cerulein uygulaması	27
Şekil 2. Subkutan Adalimumab uygulaması	27
Şekil 3. Örneklenen pankreas dokusu	28
Şekil 4. Çıkarılan spesmen	28
Şekil 5. Gruplarda amilaz düzeyleri.....	33
Şekil 6. Gruplarda TNF- α düzeyleri.....	34
Şekil 7. Gruplarda MPO aktivitesi	34
Şekil 8. Sham grubu	35
Şekil 9. Akut pankreatit kontrol grubu.....	35
Şekil 10. Normal pankreas dokusu ve ödem	36
Şekil 11. Grupların pankreatit histopatolojik skorlaması.....	37
Şekil 12. Apoptozis	38

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi eğitimimde hem cerrahi hem de akademik bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Cenap Dener, Prof. Dr. Mikdat Bozer, Doç. Dr. Aydın İnan, Yrd. Doç. Dr. Meral Şen, Yrd. Doç. Dr. Önder Sürgit'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin tüm dönemlerindeki yardımlarından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Cenap Dener'e, patolojik incelemede yardımlarından dolayı Uzm. Dr. Cevriye Cansız ve Dr. Eda Akpınar'a, biyokimyasal incelemelerdeki yardımlarından dolayı Dr. Murat Aydın'a, istatistik incelemelerindeki yardımlarından dolayı Orta Doğu Teknik Üniversitesi İstatistik bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Ayşen Akkaya'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca birlikte çalışmaktan keyif aldığım ve onur duyduğum asistan arkadaşlarım Dr. Metin Ergin, Dr. Fatma Aşık, Dr. Gökhan Akkurt, Dr. Mete Şişman ile Genel Cerrahi Anabilim dalında ve ameliyathanede görevli hemşire, teknisyen, personel arkadaşlarıma asistanlığım süresince göstermiş oldukları anlayış ve hoşgörülerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Cerrahi eğitimimdeki en büyük destekçim olan eşim Eda Akpınar'a, tüm tıp eğitimim boyunca maddi ve manevi olarak desteklerini her zaman yanımda hissettiğim değerli aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Akut pankreatit’de görülen lokal ve sistemik inflamasyonun patogenezinde ve hastalığın şiddetinin artmasında Tümör Nekroz Faktör alfa (TNF- α) önemli rol üstlenmektedir. Biz de deneysel çalışmamızda, Cerulein ile oluşturulan akut ödematöz pankreatit modelinde, TNF- α blokleri olan Adalimumab’ın inflamatuvar sürece ve tedaviye etkisini ortaya koymayı amaçladık.

Yöntem: Otuz iki adet rat, eşit sayıda (n = 8) ve rastgele olarak dört deney grubundan birine dahil edildi (Sham, Pankreatit kontrol, düşük doz ilaç, yüksek doz ilaç grupları). Sham grubu dışındaki gruplara intraperitoneal yolla bir saat ara ile 4 kez, her seferinde 20 μ g/kg Cerulein verilecek şekilde enjeksiyonlar yapılarak akut ödematöz pankreatit oluşturuldu. Düşük doz ilaç grubuna 0.5 mg/kg ve yüksek doz ilaç grubuna 1 mg/kg dozlarda Adalimumab, Cerulein enjeksiyonununun 1. saatinde 1 kez subkutan enjeksiyon uygulandı. Ratlardan pankreas dokuları çıkarıldıktan sonra kan örnekleri alınarak kurban edildi. Alınan kan örneklerinden amilaz, lipaz, C reaktif protein, lökosit, TNF- α , pankreatik dokuda myeloperoksidaz düzeyi ölçümü ve pankreas dokusunun histopatolojik incelemesi yapıldı.

Bulgular: Pankreatit kontrol grubunda amilaz, TNF- α , pankreatik dokuda ödem, nekroz, inflamasyon, pankreas histopatolojik skoru diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (p <0.05). Pankreatit kontrol grubu, düşük doz ilaç ve yüksek doz ilaç gruplarında Sham grubuna göre amilaz ve lipaz düzeyleri anlamlı derecede yüksek saptandı (p<0.05). Düşük doz ilaç ile yüksek doz ilaç grupları karşılaştırıldığında TNF- α blokaj düzeyinin ise doz artışı ile birlikte anlamlı derecede arttığı görüldü (p < 0.05). Düşük ve yüksek doz ilaç gruplarında pankreas histolojik parametreleri, Sham grubu ile benzer şekilde düşük bulundu.

Sonuç: Deneysel çalışmamızda, TNF- α antikoru olan Adalimumab’ın verilmesiyle akut ödematöz pankreatitin şiddetinin histopatolojik olarak anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Pankreatit; Cerulein; Adalimumab; TNF- α ; Deneysel

ABSTRACT

Background: TNF- α has an important role in pathogenesis of local, systemic inflammation and increasing the severity of acute pancreatitis., on pancreatitis. We aimed to explain the effects of Adalimumab, TNF- α blocker, on this inflammation process in the Cerulein induced experimental acute edematous pancreatitis model.

Methods: Thirty two rats were randomly divided into 4 groups; Sham, Pancreatitis control, low dose drug, high dose drug groups. Acute edematous pancreatitis (AEP) was induced by injection of cerulein 20 μ g/kg, 4 times subcutaneously at hourly intervals except Sham group. Adalimumab subcutaneously injected 0.5 mg/kg to low dose drug group and 1 mg/kg to high dose drug group, one times at the 1th hour of Cerulein administration. Total pancreatic tissue was resected and then rats were sacrificed by intracardiac puncture. Serum amylase and lipase activity, C reactive protein, number of white blood cell, TNF- α level, pancreatic histopathology, myeloperoxidase enzyme activity (MPO) changes were assessed.

Results: Serum amylase activity, TNF- α , pancreatic edema, necrosis, inflammation, pancreatic histopathological score were significantly higher in pancreatitis control group ($p < 0.05$). In Sham group serum amylase and lipase activity was significantly lower than the other groups ($p < 0.05$). Significant increase of TNF- α blokage level was seen, when low dose drug group and high dose drug group compared ($p < 0.05$). In low dose medicine group and high dose drug group pancreatic histological parametres were low, similar to Sham group.

Conclusion: In our experimental study, we showed significant histopathological decrease of acute edematous pancreatitis severity, with monoclonal TNF- α antibody Adalimumab administration.

Keywords: Pancreatitis; Cerulein; Adalimumab; TNF- α ; Experimental

KISALTMALAR

AP	Akut Pankreatit
AÖP	Akut Ödematöz Pankreatit
TNF α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
PAF	Trombosit Aktive Edici Faktör
IL	İnterlökin
ANP	Akut nekrotizan pankreatit
Ig	İmmunglobulin
PMNL	Polimorf nüveli lökosit
NO	Nitrik oksit
ARDS	Adult Respiratuvar Distres Sendromu
CRP	C reaktif protein
ALP	Alkelen fosfataz
GGT	Gama glutamil transpeptidaz
ALT	Alanin amino transferaz
AST	Aspartat amino transferaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
BUN	Kan Üre Azotu
Na	Sodyum
K	Potasyum
Cl	Klor
Mg	Magnezyum
HCO ₃	Bikarbonat
Ca	Kalsiyum
ERCP	Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi
AC	Akciğer
USG	Ultrasonografi
BT	Bilgisayarlı Tomografi
MRCP	Manyetik Rezonans Kolanjiopankreatografi
SIRS	Sistemik İnflamatuvar Cevap Sendromu

DİK	Dissemine İnvasküler Koagüasyon
EKG	Elektrokardiografi
APACHE	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
TPN	Total Parenteral Nutrisyon
EN	Enteral nütrisyonun
SIRS	Sistemik inflamatuvar Response (yanıtın) sendromu
E. Coli	Esheriscia Coli
GIS	Gastrointestinal sistem
ES	Endoskopik sfinkterotomi
MPO	Myeloproksidaz
MHC	Majör histokompatibility complex
HLA	Human lökosit antijen
NK	Natural killer
HE	Hematoxylin-Eosin
BBA	Büyük Büyütme Alanı
EDTA	Ethylenediamin Tetra Asetik Asitte
DNA	Deoksiribonükleik Asit
M	Mean, Ortalama
SEM	Standart Error of Mean, Standart Hata

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Akut pankreatit (AP) genellikle parankimal ve periparankimal yağ nekrozu ile birlikte görülen, inflamatuvar reaksiyon içeren patolojik bir durumdur (1). Klinik olarak akut ödematöz pankreatit'ten, mortal seyredabilen pankreatik nekroza kadar değişik şiddetlerde görülebilen ve mortalitesi %5-10' lara çıkabilen bir hastalıktır. Akut pankreatit'in hafif seyreden şekli hastalarda en sık görülen tiptir, ancak %15 – 25 hastada şiddetli akut pankreatit tablosuyla karşılaşılır. Şiddetli akut pankreatit tablosu olan hastalarda multiorgan yetmezliği %10-20'lere, mortalite %40'lara ulaşmaktadır (2-4).

Akut pankreatitte başlangıçta pankreas asiner hücrelerinden salınan enzimlerin parankim içerisinde aktive oluşu ve bezin kendini sindirmesi ön planda olsa da, hastalığın ilerleyen aşamalarında inflamatuvar mediatörler devreye girerek süreci sistemik bir hastalığa dönüştürür. Akut pankreatitte meydana gelen olaylar birçok klinik ve deneysel araştırmalarla açıklanmaya çalışılmıştır. Asiner hücre hasarını takiben, bu hücrelerdeki sindirim enzimlerinin erken aktivasyonunun patogeneizde önemli rol oynadığı yönünde ciddi kanıtlar elde edilmiştir (5). Bir başka erken olay ise inflamatuvar mediatörlerin üretimi ve sistemik dolaşıma salınımıdır (6, 7). Çalışmalarda temel amaç akut pankreatitin prognozu üzerine etkili olan pankreatik parankimal hasar ve multiorgan yetmezliklerine neden olan sistemik inflamatuvar mekanizmaları açıklamak, bunları azaltmak veya önlemeye yönelik tedavi olanaklarını araştırmaktır. Bu da lokal doku hasarı ve proinflamatuvar sitokin salınımını azaltması ve dolaşım sisteminden bu sitokinlerin uzaklaştırılması ile olabilir. Sitokinlerden akut pankreatit'te en önemli rol oynayanları IL-1b, IL-2, TNF α , IL-6, IL-8, IL-10 ve PAF'dır. Bunlar dışında birçok sitokinlerin de rol oynadığı, çalışmalar ile gösterilmiştir (8). Bu sitokinlerin akut pankreatitli hastaların plazmalarında artmış konsantrasyonda olduğu saptanmıştır.

Cerulein, Oddi sfinkterinde gevşeme ve safra kesesinde kontraksiyonlara neden olarak pankreas kanalına safra reflüsüne ve dolayısı ile pankreatite yol açan bir kolesistokinin analogudur (9). Cerulein; intraperitoneal, intravenöz veya subkutan

uygulama ile deneysel pankreatit modeli oluşturmak üzere yaygın olarak kullanılmıştır (3, 10).

TNF- α blokerleri immunomodölatör ajanların yeni bir grubudur. İnsan tümör nekroz faktörüne karşı spesifik olan rekombinant insan immünoglobülini (IgG1) monoklonal antikoru olan Adalimumab; romatoid artrit, ankilozan spondilit, psöriatik artrit ve Crohn hastalığının tedavisinde antiinflamatuvar ilaç olarak kullanılmaktadır. Bazı TNF- α blokerlerinin pankreatitte salınan sitokinlerin etkisini azalttıklarına dair deneysel çalışmalar mevcuttur (11, 12, 13), ancak akut pankreatitte Adalimumab kullanımı ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Biz de çalışmamızda ratlarda akut pankreatit oluşturmayı, TNF- α blokeri olan Adalimumab'ın pankreatitte antiinflamatuvar etkisini, düşük ve yüksek dozlardaki etkinliğini biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlarla ortaya koymayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreas Anatomisi

Pankreas karnın üst kısmında lomber 1 ve lomber 2 vertebra seviyesinde mide ve küçük omentumun arkasında bulunur

Cerrahi olarak baş, uncinata proçes, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere kabaca beş kısma ayrılabilir. Pankreas arteriyal kanlanması esas olarak çölyak trunkus ve süperior mesenterik arterin dallarından gelir. Pankreas venöz drenajı splenik vene ve superior mezenterik vene olmaktadır.

Pankreas salgıları Wirsung kanalı aracılığı ile Papilla Vateri'ye olmaktadır. Nadiren Santorini aksesuar kanalı ile de olmaktadır (1).

2.1.1. Sığan Pankreas Anatomisi

Sığanda pankreas, dalak ile midenin büyük kurvaturunun alt bölümü, duodenum kavsi ve ileumun üst kısmı arasında mezenter içerisinde yayılmış loblar halinde yer alır. Sığanlarda pankreas, intraperitoneal bir organdır ve gevşek bir yapıya sahiptir. İki daldan oluşmuştur; sol dal (baş kısmı) duodenum kavsi içinde yer alırken, sağ dal (splenik kısım) midenin büyük kurvaturunun alt kısmından dalak hilusuna kadar uzanır. Sığanda safra kesesi yoktur. Karaciğerin çeşitli loblarından gelen safra kanalları, tek bir duktus (duktus koledokus) oluşturarak birleşirler. Safra kanalı duodenuma gelmeden önce bir süre pankreasta yol alır ve bu sırada pankreastan gelen ortalama 10-12 kanal burada safra kanalına açılır. Daha sonra ortak ve tek kanal halinde biliopankreatik kanal adıyla duodenuma dökülür (14).

2.2. Pankreas Histolojisi ve Fizyolojisi

Pankreas 60-160 gr ağırlığında sindirim enzimleri ve hormonlar üreten endokrin ve ekzokrin fonksiyonları olan bir salgı organıdır. Endokrin organ Langerhans adacıklarından, ekzokrin organda asiner ve duktal hücrelerden oluşur. Enzimler ekzokrin kısmın hücreleri tarafından depolanır ve salınır. Endokrin salgılar ise Langerhans adacıkları tarafından sentezlenir.

Dıştan gevşek ve ince bir kapsül ile sarılı olan pankreasın ekzokrin ünitesi birleşik tübüloalveoler biçimli olup saf seröz salgı yapar. Pankreasın her iki kanalı da yüksek prizmatik veya yalancı çok katlı epitelle döşelidir. Arada Goblet hücreleri ve enteroendokrin hücreler de yer alır.

Pankreasın temel ekzokrin salgı ünitesi asinüstür ve günde ortalama 1500-2000 ml berrak, izotonik ve alkali (pH: 8.0-8.3) ekzokrin salgısı vardır. Bu salgı 20'den çok sindirim enzimini içinde bulundurur. Ekzokrin salgıdaki başlıca katyonlar Na^+ ve K^+ olup plazma konsantrasyonlarıyla aynıdır. Başlıca anyonlar ise Cl^- ve Mg^{+2} dur. Ekzokrin salgının akım hızı artıkça HCO_3^- konsantrasyonu artarken, Cl^- azalır. Pankreastan salgılanan bu ekzokrin salgıdaki bikarbonat iyonları, mideden duodenuma boşalan asit kimusun nötralize edilmesinde de önemli rol oynar. Ekzokrin pankreas salgısı bazal koşullarda 0.3 MGK/ml protein içerir. Bu proteinlerin %90'ını enzimler ve proenzimler oluşturur. Pankreas ekzokrin salgısı, protein, karbonhidrat ve yağlar gibi temel üç besin maddesinin sindirimini sağlayan enzimleri içerir. Proteolitik enzimler; tripsin, kimotripsin, karboksipolipeptidaz, ribonükleaz ve deoksiribonükleaz'dan ibarettir. Bunların içinde en fazla miktarda olan tripsindir. Tripsin ve kimotripsin proteinleri peptidlere parçalar. Karboksipolipeptidaz, peptidleri karboksi ucundan ayırarak aminoasitleri parçalar. Nükleazlar ise nükleik asitleri parçalar. Amilaz enzimi karbonhidratları parçalayarak disakkaritleri ve az miktarda trisakkaritleri oluşturur. Pankreasın yağ sindiriminden sorumlu enzimleri ise lipaz, kolesterol esteraz ve fosfolipazdır. Proteolitik enzimler pankreas hücrelerinde sentez edildiklerinde inaktif formdadır. Bunlar intestinal kanala salgılandıktan sonra aktif duruma geçerler. Önceden aktif duruma geçmeleri halinde tripsin ve öteki enzimler pankreasın kendisini sindirebilirler. Pankreas asinuslarına proteolitik enzimleri sekrete eden hücreler aynı zamanda tripsin inhibitörü adı verilen maddeyi de salgırlar. Öteki proteolitik enzimlerinde aktivasyonu tripsinle olduğu için, tripsin inhibitörü tümünün aktivasyonunu engeller. Bununla beraber pankreas ağır şekilde hasara uğrar veya kanalı tikanır, pankreasın haraplanan kısmında çok miktarda enzim birikir. Bu durumda tripsin inhibitörü yetersiz kalır ve pankreas salgısı aktive olup, pankreas dokusunu sindirebilir, sonuçta akut pankreatit gelişir (15).

Pankreasın ekzokrin salgısı, sinirsel ve hormonal mekanizmalarla kontrol edilir. Sinirsel uyarılardan nervus vagus sorumludur. Direkt vagal uyarı enzimden zengin düşük volümlü pankreatik salgıya neden olur. Nervus vagus aynı zamanda mideden asit salınımı yoluyla indirekt olarak ekzokrin salgı üzerine etki eder. Hormonal kontrolde, sekretin ve kolesistokinin temel olarak rol alır. Bu iki hormonun dışında gastrin, pankreatik polipeptid, glukagon gibi diğer bazı hormonlarda hormonal kontrolde rol oynarlar (15).

2.3. Akut Pankreatit

Akut pankreatit bezin kendi enzimlerinin aktivasyonu, enzimlerin interstisyel alana sızması ve sindirimi sonucunda oluşan bakteriyel olmayan pankreas inflamasyonudur. Klinik olarak akut karın ağrısı, kanda pankreas enzimleri konsantrasyonlarında yükselme ve idrarda pankreas enzimlerinde artış vardır.

Akut pankreatit'in doğru olarak ilk tanımlanması ve sınıflandırılması Fitz tarafından 1889 yılında yapılmıştır (16, 17). 1963 ve 1984 yıllarında Marsilya'da yapılan sınıflamaya göre akut ve kronik olmak üzere iki grupta toplanmıştır (18). 1991 yılında Ulm ve 1992 yılında Atlanta Konsensüsü'nde akut pankreatit ve komplikasyonları için ortak bir sınıflama elde edilmiştir (16, 19, 20). Toplantının bugün de geniş kabul gören sonucuna göre; organ yetmezliği, sistemik ve/veya lokal komplikasyonların (nekroz, pseudokist ve abse) varlığı ile birlikte olan pankreatitler, şiddetli akut pankreatit olarak adlandırılmıştır.

Bu sınıflandırmalara göre akut pankreatit; ani başlayan karın ağrısı ve pankreatik enzimlerin kanda ve idrarda yükseldiği durum olarak tanımlanmıştır (18).

Akut pankreatit'in klinik spektrumu akut ödematöz pankreatit'ten (AÖP) öldürücü infekte pankreatik nekroza kadar değişik şiddetlerde olabilen ve mortalitesi %5-10 olan bir hastalıktır. Çoğu hastada orta düzeyde ve kendi kendisini sınırlar şeklindedir ve prognoz iyidir. Şiddetli pankreatik nekroz ile karakterize veya uzak organ yetmezliği olan %10-20 hasta grubunda yoğun bakım ihtiyacı ve cerrahi gerektirebilir ve bu hasta gruplarında mortalite %40'lara ulaşabilmektedir (2, 3).

2.3.1. Etyoloji

Biliyer sistem taşları ve kronik alkol kullanımı akut pankreatit'in en önemli iki sebebidir ve tüm olguların %60–80'ini kapsar. İdiyopatik nedenler akut pankreatit'in üçüncü sıklıktaki sebebidir ve büyük serilerde %10-40 arasındadır (2, 18, 21, 22). Akut pankreatit'deki etyolojik faktörler tablo 1 de gösterilmiştir (1, 2, 18, 23-26).

Bayanlarda erkeklerden daha sık görülür. Batı ülkelerinde bayanlarda etyolojik faktör olarak biliyer sistem taşları çok önemli olmasına rağmen erkeklerde aşırı alkol tüketimi daha önemlidir (ülkemizde etyolojideki rolü daha azdır). Akut pankreatit en sık 50–70 yaşları arasında görülür. Akut alkolik pankreatit erkeklerde daha fazla ve daha erken yaşlarda (ortalama 30–45 yaşlarında) görülür (24).

Akut pankreatit vakalarının %30-75'inde biliyer sistem taşı saptanmasına rağmen, safra taşı olan hastaların sadece %3-8'inde akut pankreatit gelişmektedir (2, 27). Safra taşları ile akut pankreatit arasındaki ilişkiyi ilk defa 1901 yılında Opie tariflemiştir. Ancak safra taşlarının hangi mekanizmayla akut pankreatit yaptığı kesin olarak bilinmemektedir. Opie, ortak kanal teorisinde, safra taşlarına bağlı obstrüksiyon sonucu pankreatik duktal sisteme safra reflüsü geliştiği ve akut pankreatite yol açtığı, diğer bir yazısında da safra taşının, ödem ve inflamasyonun pankreatik kanal obstrüksiyonu yaptığı ve safra reflüsü olmadan akut pankreatite yol açtığını ileri sürmüştür (1, 2, 28).

Acosta ve Ledesma akut pankreatit geçiren hastaların dışkılarında safra taşlarını sık saptamaları nedeniyle safra taşı migrasyonunun ve papillada geçici tıkanmanın önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmacılara göre safra kesesi içindeki taşların birden çok ve küçük olması, sistik kanalın geniş olması, koledokta taş bulunması, koledok ile Wirsung kanalları arasındaki açının geniş olması ve ortak kanalın ortalama 5 mm.'den uzun olması akut pankreatit yönünden risk faktörü olarak kabul edilmektedir (2, 18, 29).

Kronik alkoliklerin yaklaşık %5-10'unda akut pankreatit atakları gelişmektedir. Kronik alkol kullanımı olmayan bireylerde akut pankreatit gelişimi çok nadirdir ve alkoliklerde pankreatit genellikle 10-20 yıl süreyle günlük 150-175 g. alkol alımından sonra meydana gelmektedir. Genel kabul gören görüş alkolün kronik pankreatite neden olduğu ve bu hastalarda görülen akut pankreatit ataklarının kronik pankreatit zemininde geliştiği şeklindedir. Alkolün hangi mekanizmalarla pankreatite

neden olduğu tam bilinmemektedir. Oddi sfinkterinde spazm ve pankreatik salgıyı artırarak duktal hipertansiyona yol açtığı, pankreas kanallarının geçirgenliğini değiştirdiği, pankreatik salgıda protein konsantrasyonunu artırarak kanalları protein tıkaçlarıyla tıkadığı, golgi kompleksinde sindirim ve lizozomal enzimleri ayıran mekanizmaların bozulmasıyla uygunsuz olarak pankreas enzimlerini aktive ettiği gibi teoriler ileri sürülmektedir. Ayrıca pankreas asiner hücreleri üzerine direkt toksik etkili olduğu da gösterilmiştir (1, 2, 18, 30-32).

Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP) uygulanan hastaların %3-5'inde akut pankreatit gelişebilmektedir. %90 oranında hafif seyreden bu pankreatite neden muhtemelen kanala uygulanan basınçlı kontrast madde, tekrarlayan enjeksiyonlar ve uygulanan stentlerdir (33, 34).

Hipertrigliserideminin pankreatite nasıl yol açtığı kesin olarak bilinmemekle birlikte, 1000 mg/dL üzerindeki trigliserid düzeyleri akut pankreatite neden olabilir. Hipertrigliseridemi akut pankreatitli olguların %1-7'sinde etyolojik faktördür. Serum trigliserid artışında pankreatik lipazın etkisi ile ortaya çıkan serbest yağ asitleri pankreas dokusu ve pankreas mikrosirkülasyonuna zarar vererek akut pankreatite neden olmaktadır (35, 36).

Duktal obstrüksiyon yapan periampüller tümörlerde ilk başvuru akut pankreatit olabilir. İnfeksiyonlardan kabakulak, koksaki virüsleri ile askaris gibi parazitler pankreas kanalını tıkayarak akut pankreatite neden olabilir.

Bunların dışında hiperparatiroidi durumunda, hipotermide, gebelik ve böbrek transplantasyonu sonrası nadir olarak akut pankreatit meydana gelebilmektedir. Tüm bu nedenler olmasına rağmen %10-40 vakada hiçbir neden bulunamaz ve idiopatik pankreatit olarak kabul edilir.

Tablo 1: Akut Pankreatit'te Etiyolojik Faktörler

A – Sık Sebepleri:	
1 –	Biliyer sistem taşları
2 –	Alkol kullanımı
3 –	Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP) ve endoskopik sfinkteretomi
4 –	İdiyopatik
B – Seyrek Sebepleri:	
1 –	Pankreatik kanalı tıkayan olaylar
a –	Tümör: pankreatik veya periampuller
b –	Pankreatik divisium
c –	Ampuller stenoz
d –	Periampuller divertikül
e –	Penetre duodenum ülseri
f –	Afferent lup sendromu
g –	Paraziter obstrüksiyon (Ascaris, Clonorchis)
2 –	Enfeksiyonlar
a –	Kabakulak virüsü
b –	Koksaki Virüsü
c –	Echo virüs
d –	Mycoplasma pneumonia
e –	Karaciğer kist hidatiği
3 –	İlaçlar ve kimyasal ajanlar
	Azotioprine, Estrojen, Tiazid diüretikleri, Furosemid, Sulfonamidler, Didanosine, Tetrasiklinler, L-Asparaginase, Kortikosteroidler, Etakrinik asid, Phenformin, Procainamide, Valproik asid, Clonidine, Pentamidine, Gadolinum
4 –	Travma
a –	Künt karın travmaları
b –	Delici karın travmaları
c –	Cerrahi girişimler (Koledok eksplorasyonu, Sfinkteroplasti, Distal gastrektomi)
5 –	Metabolik
a –	Hiperparatiroidi
b –	Hiperkalsemi
c –	Terminal böbrek yetmezliği, üremi
d –	Hipertrigliseridemi
6 –	İskemik Faktörler
a –	Hipotansiyon ve şok
b –	Kardiyopulmoner bypass
c –	Atheroembolizm
7 –	Vasküler Faktörler
a –	Periarteritis nodosa
b –	Hipotermi
c –	Malign hipertansiyon
d –	Sistemik lupus eritematozis
e –	Henöch schönlein purpurası
f –	Romatoid artrit
8 –	Hereditör Faktörler
	Familiyal hipolipoproteinemi Tip 1-4-5
9 –	Toksin: Akrep zehiri

2.3.2. Patogenez

Akut pankreatit'in pankreasın kendi enzimleri tarafından sindirilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Patogenezi klinik ve deneysel gözlemlere göre çeşitli teorilerle açıklanmaya çalışılmıştır.

Obstrüksiyon sekresyon teorisi:

Hayvanlarda pankreatik kanalın bağlanması, insandaki ödematöz pankreatite benzer tablo oluşturur. Ancak bu durum kendini sınırlar niteliktedir ve kısa sürede düzelebilir. Pankreas salgısının uyarılması ile birlikte kısmi kanal tıkanıklığı oluşturulduğunda çok daha şiddetli pankreas inflamasyonu ortaya çıkar (33).

Ortak kanal teorisi:

Ortak kanalın tıkanması ile pankreatik kanala oluşan safra reflüsü sonucu pankreatik kanal geçirgenliği artar ve pankreatik enzimler pankreas parankim içine sızar ve akut pankreatite neden olur. Ortak kanalın 5 mm'den uzun olması pankreatit için risk faktörüdür. Ancak ortak kanal insanların %90'ında reflüye izin vermeyecek kadar kısadır (33).

Duodenal reflü teorisi:

Duodenal içeriğin ampulla vateri içerisinden pankreatik kanala reflüsü hayvanlarda deneysel olarak pankreatite yol açmaktadır. İnsanlarda duodenal duvar ve oddi sfinkteri reflüyü etkin bir şekilde önler (21).

Pankreatik kanal geçirgenliğinin artması:

Hayvan deneyleri çok çeşitli durumların pankreatik kanalların geçirgenliğini artırdığını ve duktus içerisindeki pankreatik enzimlerin dışarı sızarak pankreatite neden olabileceğini göstermiştir. Bu nedenler arasında etanol alınması, kanalların dekonjuge safra tuzlarına maruz kalması, tıkanıklık ile birlikte pankreatik salgının artması ve hiperkalsemi sayılabilir (21).

Enzim otoaktivasyonu:

Deneysel olarak Cerulein ile pankreas salgısının uyarılması veya etioninle desteklenmiş kolinden fakir diyet ile besleme yapıldığında, tripsinojenin intrapancreatik otoaktivasyonu olur ve pankreatit meydana gelir (21).

Etyolojiden bağımsız olarak, akut pankreatit'in primer asiner hücre ölümünden kaynaklandığı da patogeneizde düşünülmektedir. Akut pankreatit, asiner hücreden ekzokrin enzim sekresyonunun inhibisyonu ile veya daha az sıklıkla, herediter pankreatitte olduğu gibi, tripsinin, inaktif prekürsörü tripsinojenin primer hücre içi aktivasyonu ile başlar. Bu uyarı reseptör birleşiminin bozulması, asiner hücre tarafından sentezlenen sindirim enzimlerini depolayan intrasellüler organeller olan zimojen granüllerin artışına yol açar. Bu granüller de lizozomlar tarafından hücre içi olarak eritilir. Lizozomlar asit hidrolaz içerdiği için, tripsinojen gibi inaktif proenzim prekürsörü olarak sentezlenen hücre içi proteazları aktive etme yetenekleri vardır. Normalde bu inaktif proenzim prekürsörleri, duodenumda ekstrasellüler olarak mukozadan kaynaklanan enzim olan enterokinaz tarafından aktive edilirler. Bu kolokalizasyon teorisi, hayvanlarda ve insanlarda hafiften ağır pankreatite kadar farklı deneysel modelleri açıklamaktadır. Bundan dolayı yukarıda açıklanmış olan teoriler eski teori olarak kabul edilmektedir.

Bir başka görüş de etyolojiden bağımsız olarak, akut pankreatitin, sindirim enzimlerinin prematür hücre içi aktivasyonu ile birlikte primer asiner hücre ölümünden kaynaklandığıdır. Proteaz, amilaz, lipaz, fosfataz ve elastaz gibi aktive edilmiş enzimlerin parankim içine salınımı, pankreasın ve çevre organların kendi kendisini sindirmesine yol açar.

Hasar görmüş asinüs hücrelerinden serbest oksijen radikalleri açığa çıkar. Bu maddeler lökositleri inflamasyon sahasına çekerler. Burada önce nötrofiller, sonra monosit, lenfosit ve diğerleri görülür. Lökositlerden açığa çıkan mediatörler ve sitokinler özellikle tahrip edicidir. Akut pankreatitte önemli rol oynadığı sanılan sitokinler ve serbest oksijen radikalleri akut pankreatitin ilerlemesinde ve uzak organ işlev bozukluğunda önemli rol alırlar (21).

2.3.3. Fizyopatoloji

Akut pankreatitte fizyopatolojik mekanizmanın aktive olmuş pankreatik enzimlerden çok aktif hale geçmiş PMNL'den salınan oksidan moleküller olduğu düşünülmektedir. Lökositlerden ortaya çıkan mediatörler ve sitokinler tahrip edici özelliğe sahiptirler. Sitokinler düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir, normal dokuda bulunmazlar. Dış kaynaklı bir uyarı hücreyi sitokin üretmek için uyarır. Ortaya çıkan sitokin kendisinin ve diğer bazı sitokinlerin üretimini artırır. Akut pankreatitte rol oynadığı düşünülen proinflamatuvar sitokinler; IL-1B, TNF α , IL-6, IL-8 ve PAF'dır. TNF α bu sitokinler arasında en kritik rolü oynayandır (37, 38). Ayrıca IL-2, IL-10, nitrik oksit (NO) ve serbest radikaller akut pankreatitin ilerlemesinde rol oynarlar. IL-1 ve TNF α infeksiyon ve inflamasyona ilk cevap olarak ortaya çıkan sitokinlerdir. Akut pankreatitte görülen ateş, hipotansiyon, yaygın damar içi pıhtılaşma, şok gibi lokal ve sistemik bir çok bulgudan sorumludurlar. Bu lökosit ürünleri damar duvarına doğrudan etki ederek damar duvarı geçirgenliğini arttırmaları. Bunun sonucu olarak da ödem ve trombüs oluşumuna yol açarlar. Bu da pankreas mikrosirkülasyonunu bozar (39). Pankreatite bağlı gelişen komplikasyonlarda multiorgan yetmezliği erken ve geç faz olmak üzere iki şekilde karşımıza çıkmaktadır. Geç fazda multiorgan yetmezliği süperenfeksiyona ikincil gelişen sepsise bağlıdır. Erken dönemde ise mikrodolaşım bozuklukları, multiorgan yetmezliğinin patogeneğinde önemli bir yere sahiptir (40). Akut pankreatit'teki dolaşım bozukluklarının mekanizması net olarak açık olmamakla birlikte şu ana kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde kapiller endotel hücrelerinin bu fenomende önemli bir yeri olduğu görülmektedir (41). Günümüz bilgileri ışığında vasküler endotel hücrelerinin immün hücrelerle etkileşimi sonucunda oluşan kapiller staz dolaşım bozukluğunda ana etken olarak görülmektedir.

Akut pankreatit seyriinde ilk değişiklikler, pankreasın interstisyel septumu boyunca yer alan yağ dokusunda nekroz ve az miktarda PMNL infiltrasyonu şeklinde başlar. Bu dönemde asiner hücreler sağlamdır, interstisyumda ödem ve hücre infiltrasyonu ile karakterize histopatolojik değişiklikler oluşur. Bu tablo ödematöz pankreatit olarak adlandırılır. Olguların %70-80'inde patoloji bu haliyle sınırlı kalma eğilimi gösterir. Olaya glandüler hücreler ve yağ dokusunun koagülasyon nekrozu eklenirse nekrotizan pankreatit tablosu gelişir. Nekroz pankreasın tümünü uniform

olarak tutmayabilir. Nekrotik alanlar arasındaki sağlam bölgeler pankreasa benekli bir görünüm kazandırır. Damar duvarlarının aktive elastaz nedeniyle tahrip olması sonucu hemorajik pankreatit gelişir. Hemoraji dokuları diseksiyonla cilt altına kadar ulaşabilir. Ölü dokular, pankreatik sıvı, kan ve yağ damlacıkları pankreas içinde veya kenarında birikerek psödokistlere neden olur. Bu psödokistler retroperitoneal olarak büyüyebildikleri gibi, komşu organlara bası yapacak şekilde herhangi bir yönde de büyüyebilirler. Aktive olmuş pankreas enzimleri ve inflamatuvar hücrelerin peritonea irritatif etkileri sonucu sıvı kolleksiyonu oluşur. Bu sıvı en sıklıkla omentum minusta olmak üzere intraperitoneal (pankreatik asit), diyafragmatik lenfatikler yoluyla intraplevral (plevral efüzyon) olabilir. Nekrotik materyal ve pankreas sıvısı içeren kolleksiyonların enfekte olması sonucu pankreas apseleri meydana gelebilir. Akut pankreatite neden olan olay ne olursa olsun tablo aynıdır (42). Patolojik olaylar tanımlanırken iki gruba ayrılarak incelenmektedir;

2.3.3.1. Akut ödematöz pankreatit

Makroskopik olarak, gland büyük, çevredeki mezenter ve omentumda beyazımsı gri renkli, 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 PMNL ile doludur. Asiner hücreler genellikle bozulmamıştır. Ultrastrüktürel incelemede asiner hücrelerinin lümen kenarındaki mikrovilluslarının kaybolduğu, endoplazmik retikulum ve mitokondrilerinin bozulduğu görülür. Enzimleri depolayan zimojen granüllerin membranları sağlam olup, büyüklük ve dansiteleri normaldir. Kapiller ve lenfatik ağlar genişlemiş olabilir, ancak tromboz görülmez (42).

2.3.3.2. 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 kahverengi-siyah renkli bir sıvı bulunur. Retroperitoneal bölgede,

ağır olgularda kolon mezosunda ve dalak pedikülünde kanamalar saptanır. Mikroskopik olarak pankreasın tümü nekroze olabileceği gibi, sağlam ve nekrotik alanlar yanyana da görülebilir. Nekroz için sabit bir bulgu, asini lobüllerini besleyen kapiller arteriol ve venüllerdeki tıkanmalardır. Prelobüler damarların tıkanmaları nekroz için tipiktir. Nekroz alanlarının yanında, ödemli, mononükleer hücre infiltrasyonu alanları da görülür (43).

2.3.4. Tanı

Akut pankreatit klinik olarak karşımıza çok değişik şekillerde çıkabilir. Çoğunlukla yardımcı tanı yöntemleri ile tanı konabilmektedir. Bu yüzden akut pankreatit tanısı klinik, biyokimyasal ve radyolojik bulgular bir arada değerlendirilerek konulmalıdır.

2.3.4.1. Semptom ve klinik bulgular

Akut pankreatit vakaların yaklaşık %70-80'i hafif seyirli ödematöz interstisyel inflamasyon şeklindedir. Bu hastalarda tüm bulgular ve şikayetler ortalama bir hafta içerisinde normale döner. Geri kalan hastalarda akut pankreatit ağır ve komplikasyonlarla seyreder. Bu gruptaki hastalarda mortalite oranları %40'lara kadar çıkabilmektedir.

Karın ağrısı, bulantı ve kusma en önemli semptomlardır. Ağrı en sık epigastrium lokalizasyonundadır ancak paraumblikal bölgede, karın üst ve alt tarafında, göğüs alt kısımlarında, sırtta veya tek ya da her iki omuzda hissedilebilir. Çoğu hasta ağrının bıçak saplanır gibi aniden başladığını ve kuşak tarzında sırtta doğru yayıldığını tarif eder. Ağrı genellikle sürekli olmakla birlikte oturmakla azalma gösterirken yatar durumda artar.

Bulantı ve kusma çoğu hastada rastlanan bulgulardır. Pankreatitteki bulantı ve kusma mide boşalmasından sonra da devam eder. Kusma, gastro-özefajial bileşke yırtıklarına ve üst gastrointestinal kanamaya neden olabilir.

Hastaların %20-25'inde sarılık ortaya çıkabilir. Safra taşına bağlı pankreatitte koledok tıkanıklığına bağlı sarılık gelişebilirken, sarılık sıklıkla safra taşı olmayan pankreatitlerde de ortaya çıkabilir. Bu sarılık pankreas başındaki ödem nedeniyle ortak safra kanalının pankreas içerisindeki kısmının kompresyonuna bağlıdır.

Fizik muayene bulguları atağın şiddetine göre değişkenlik gösterebilir. Şiddetli pankreatitli hastalarda anksiyete ve korku vardır. Sıklıkla karnın üst yarısında ve epigastriumda hassasiyet ve hafif defans olabilir. Karında distansiyon vardır ve perküsyonda timpanik ses duyulur. Epigastrium ya da karnın sol üst yarısında pankreas ve çevre dokuların inflamasyonuna, pankreatik psödokiste veya pankreas apsesine bağlı kitle ele gelebilir. Barsak sesleri sıklıkla azalmış veya yoktur.

Komplike olmayan hastalarda ateş hafifçe yükselmiştir (38 °C - 38.5 °C). Ateş sitokinler ve proinflamatuvar maddelerin hasarlı pankreas dokusundan salınımına bağlı olarak yükselir.

Taşikardi, taşipne, hipotansiyon ve şok benzeri bulgular görülebilir. Bunlar ;

- 1 – Kan ve plazma proteinlerinin retroperitoneal alana sızması sonucu hipovolemi,
- 2 – Kinin peptidlerinin salınımına bağlı vazodilatasyon ve vasküler geçirgenlikte artış,
- 3 – Proteolitik ve lipolitik enzimlerin dolaşıma salınıp sistemik etkilerine bağlı olarak meydana gelir.

Plevra irritasyonuna ve karın ağrısına bağlı olarak nefes almak zorlaşmıştır. Akciğer alt zonlarda solunum sesleri azalmıştır, ral duyulabilir ve atelektazi görülebilir. Plevral efüzyon sıklıkla sol tarafta gözlenebilirse de bazen bilateral olabilir. Şiddetli akut pankreatitli hastalarda sıklıkla akut akciğer hasarı meydana gelir ve adult respiratuvar distres sendromuna (ARDS) yol açabilir.

Hastaların %1'inde peripankreatik ve retroperitoneal bölgeye olan kanamanın ekstreva olmasına sırta (Grey Turner belirtisi) veya göbük çevresinde (Cullen belirtisi) ekimotik renk değişikliği gözlenebilir (1, 2, 21, 33, 44, 45).

2.3.4.2. Laboratuvar bulgular

Akut pankreatit tanısında en sık kullanılan testler, inflame pankreastan salgılanan enzimlerin ölçülmesine dayanır. İlk kez 1929 yılında Elman ve arkadaşları akut pankreatitte amilaz değerlerinin yükseldiğini rapor etmiştir. Serum amilaz konsantrasyonu akut atağın başlamasından 6 saat sonra normalin 2.5 katına çıkar ve 36-48 saat yüksek kalır. Normal serum amilaz değerinin %60'ı tükrük bezi %40'ı pankreas kaynaklıdır. Tablo 2' de gösterilen nedenlere bağlı olarak, amilaz değerleri

akut pankreatit dışındaki hastalıklarda da yüksek değerlere ulaşabilmektedir. Akut pankreatit tanısında serum amilaz yüksekliğinin sensitivitesi %80-85 civarındadır (sensitivitesi safra taşına bağlı akut pankreatitte %90-100, alkolik pankreatitte %55-80, hiperlipidemide %50 civarındadır). Görüldüğü gibi normal serum amilaz değerleri akut pankreatit tanısını ekarte ettirmemektedir. Ranson ve arkadaşları pankreatit dışı karın ağrısı nedeniyle acile başvuran hastaların %5'inde, pankreatit nedeniyle acile başvuran hastaların %95'inde amilaz değerlerini yüksek bulmuşlardır. Amilaz yüksekliği tanıda önemli olmasına rağmen, hastalığın şiddetini ve prognozunu belirlemede değeri yoktur (1, 2, 21).

Serum amilaz ölçümüne ek olarak idrar amilaz ölçümü akut pankreatit tanısını kuvvetlendirir.

Tablo 2: Hiperamilazemi nedenleri (1, 2, 21)

<u>Karın İçi</u>	<u>Karın Dışı</u>
<u>Pankreatik Hastalıklar</u>	<u>Tükürük bezi hastalıkları</u>
Akut pankreatit	Kabakulak
Kronik pankreatit	Parotis iltihabı
Travma	Taş
Kanser	Radyasyon sialoadenitisi
Psödokist	<u>Amilaz atımında bozukluk</u>
Pankreatik asit	Böbrek yetmezliği
Pankreas apsesi	Makroamilazemi
<u>Pankreas dışı hastalıklar</u>	<u>Çeşitli</u>
Biliyer sistem hastalıkları	Pnömoni
İntestinal tıkanıklık	Pankreatik plevral efüzyon
Mesenterik infarkt	Mediastinal psödokist
Özofagus perforasyonu	Kafa travması
Peptik ülser delinmesi	Şiddetli yanık
Peritonit	Diabetik ketoasidoz
Aferent loop sendromu	Gebelik
Ektopik gebelik rüptürü	İlaç alımı
Salpenjit	Bisalbuminemi
Aort anevrizma rüptürü	

Serum lipazı, akut pankreatit tanısında diğer önemli bir enzimdir. Bu enzim çoğunlukla pankreas kaynaklıdır ve amilazdan daha uzun süre serumda yüksek olarak seyreder. Lipaz yüksekliği, akut pankreatit tanısında amilaz yüksekliğine göre daha spesifik ve daha sensitiftir. Akut pankreatitten şüphelenilen hastada her iki testinde kullanılması tanıda yanlışlıkları azaltacaktır (1, 18, 21).

Akut pankreatitte birçok protein serumda yükselebilir. Akut pankreatit tanısında serum tripsin ölçümü amilaz ve lipaz ölçümünden daha iyi bir göstergedir ancak ölçümü zaman alır ve kolay değildir. Elastaz 1, amilaz ve lipazdan daha uzun süre yüksek kalır ancak rutin olarak kullanılmaz. Polimorfonükleer elastaz, fosfolipaz A2, ribonükleaz, alfa makroglobülin, c reaktif protein (CRP) yüksekliği serumda tespit edilebilir. Tüm bu proteinler tanıdan daha çok hastalığın şiddeti hakkında bilgi verir (1, 2, 18, 21).

Biliyer sistem taşlarına bağlı akut pankreatitte serum bilirubin, alkalen fosfataz (ALP), gama glutamil transpeptidaz (GGT), alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH) değerleri yüksek olarak bulunabilir. Bu değerler taşın biliyer sistemden geçip gitmesiyle hızlı bir şekilde normal değerlere döner. Serum bilirubin değerlerinin yüksek olarak devam etmesi biliyer tıkanıklığın devam ettiğini gösterir (2, 18, 21).

Akut pankreatitte hematokrit değerleri dehidratasyona bağlı olarak yüksek bulunabileceği gibi, pankreatik veya retroperitoneal kan kaybı nedeniyle düşük de olabilir. Sıvı açığı nedeniyle prerenal böbrek yetmezliği ve buna bağlı üre (BUN), kreatinin yüksekliği tespit edilebilir. İnsülin salınımında yetersizliğe bağlı olarak açlık kan şekeri (AKŞ) düzeyi yüksek saptanabilir.

Süpüratif komplikasyonların yokluğunda beyaz küre sayısı 12000/mm³ üzerinde nadir olarak ölçülür (21).

Serum kalsiyum (Ca) düzeyleri düşük ölçülebilir, 7.5 mg/dL altındaki kalsiyum değerleri kötü prognostik faktördür (1).

2.3.4.3.Radyolojik bulgular

Akut pankreatit şüphesinde; akciğer (AC) grafisi, direk karın grafisi, ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP) klinik ve laboratuvar verilerine destek olur.

Abdominal ultrasonografi (USG) safra kesesi taşlarını, koledok taşlarını, intrahepatik, ekstrahepatik safra yollarının değerlendirilmesinde, pankreatik ödem, peripankreatik sıvı koleksiyonunun değerlendirilmesinde yararlıdır. Ayrıca pankreas alanlarının dışında küçük omentumda, pararenal bölgede sıvı koleksiyonunun

tespitinde yarar sağlar. Dezavantajı ise ileus nedeniyle gaz gölgesi, obez hastalarda geniş yağ dokusu nedeniyle pankreas değerlendirmesi zorlaşır (2, 33, 46, 47, 48).

Kontrastlı bilgisayarlı tomografi akut pankreatitin tanısında en önemli görüntüleme yöntemidir. Erken inflamatuvar değişiklikleri göstermede, şiddetli akut pankreatitin derecelendirilmesinde, nekroz gibi komplikasyonları göstermede mükemmeldir. Tomografik olarak değerlendirilen parankimal değişiklikler ile akut pankreatitin şiddeti arasında yüksek oranda ilişki vardır. Balthazar tarafından yapılmış olan sınıflama ve bilgisayarlı tomografi şiddet skoru ile değerlendirilir (2, 33, 46-49).

2.3.5. Prognostik kriterler

Akut pankreatitin çok çeşitli tablolarda ortaya çıkabilmesi, erken dönemde klinik bulguların laboratuvar ile uyumlu olmayabileceği, ciddi komplikasyonlarının gelişmesi yönünden yüksek risk olması nedeniyle hastaların erkenden belirlenmesi, mortalite oranını azaltabilecek daha agresif bir yaklaşıma olanak sağlar.

Akut pankreatitte prognostik göstergelerden en çok kullanılanı Ranson kriterleri olmakla birlikte, Imrie, Mc Mahon kriterleri, CRP ve APACHE II (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation) gibi skorlama sistemleri de kullanılmaktadır. Prognostik kriterler tezimizin doğrudan konusu olmadığından burada ayrıntıya girilmeyerek kısaca bahsedilecektir.

Ranson kriterleri hasta başvurduğunda ve 48. saatteki yapılan bazı demografik, biyokimyasal ve klinik parametreleri içerir. Ranson değeri 0-2 ise mortalite %2, 3-4 ise %15, 5-6 ise %40, 7-8 ise %100'e ulaşabilir.

Imrie kriterleri ise Ranson kriterlerin bir modifikasyonudur. Mc Mahon, peritoneal sıvının kalitatif değerlendirilmesini önermiştir. Burada aspire edilen peritoneal sıvı standart bir renk ile karşılaştırılmaktadır. Ksantokromi derecesindeki artışın pankreatit atağının ağırlığı ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir. Hastalarda CRP değeri 100 mg/l ve üzerinde ise daha kötü prognoz beklenmektedir.

APACHE II skoru 10'dan düşük olduğunda mortalite oranının oldukça az olduğu; skor 10-16 olduğunda mortalite oranının %20, 16'dan yüksek olduğunda mortalitenin %35'e yükseldiği görülmüştür (50).

2.3.6. Tedavi

2.3.6.1. Cerrahi Dışı Tedaviler

Klinik ve laboratuvar değerlendirmesi ile tanının konulmasını takiben, akut pankreatitli hastalarda uygulanacak en önemli tedavi pankreatik salgıların inhibe edilmesini sağlayacak medikal tedavidir.

Dolaşım düzeldiğinde ağır akut pankreatitli hastaların çoğunda inatçı kapiller geçirgenlik artması ve doku ödemi ile karakterize reperfüzyon hasarı görülür. Pankreatitin hiperdinamik fazı genellikle 4-10 gün sürer. Bundan sonra eğer enfeksiyon gelişmezse mikrovasküler bütünlük tekrar oluşur ve hastanın diürezisi kendiliğinden gelişir. Bu yüzden diüretik tedavi erken dönemde verilmemelidir (1).

Araştırmalar orta yada hafif şiddetteki pankreatitte nazogastrik dekompresyonun hastalığın seyrini değiştirmede önemli olmadığını göstermiştir. Ancak şiddetli veya nekrotizan pankreatitli hastalarda nazogastrik dekompresyon kusmayı gidermede gereklidir. Ayrıca bu tür ağır hastalarda stres ülseri ve kanamayı önlemek için H2 bloker tedavi uygulanmalıdır (1, 21).

Morfin oddi sfinkter tonusunu arttırarak safra stazına neden olabilmektedir. Bundan dolayı akut pankreatitte analjezi için Meperidin ve türevlerini tercih edilmektedir (1, 51). Eğer steatore varsa bu, pankreas ekzokrin salgısının en az %90'ının kaybedildiği anlamına gelir. Bu bulgunun diğer önemi; steatore miktarının akut pankreatitin şiddetiyle paralellik göstermesidir.

Ağır akut pankreatit yoğun bakım şartlarında tedavi edilmelidir. Hastaların yoğun bakım desteğine gereksinimini belirleyen temel göstergeler organ yetmezliği ve bilgisayarlı tomografide nekroz varlığıdır. Organ yetmezliği için şu kriterler tanımlanmıştır ;

- Hipoksi (PaO₂<70 mmHg)
- Hipotansiyon (sistolik tansiyon< 90 mmHg)
- Üremi (kreatinin>2 mg/dL)
- Gastro intestinal sistem için: 500 ml.den çok kanama olması

Görüldüğü gibi yoğun bakım desteği gereken pankreatit hastasında sıvı-elektrolit takibi çok önemlidir. Burada kullanılacak kristaloid gereksiniminin

hastanın takibine göre ayarlanması gereklidir. Vazopressör ajanlardan Dopamin, diğerlerine kıyasla daha avantajlı gözükmektedir. Çünkü Dopamin aynı anda periferik vasküler direnci artırırken, renal ve pankreatik kan akımında azalmaya yol açmamaktadır. Buna karşın Heparin, Vazopressin ve düşük molekül ağırlıklı Dextran belirgin bir yarar sağlamamaktadır (52).

Hastalığın seyri sırasında hipokloremi, hipokalemi ve hipokalsemi gibi hızla düzeltilmesi gereken elektrolit düzensizlikleri oldukça sık görülür. KCL, NaCL ve Ca replasmanları uygun şekilde yapılmalıdır. Ca seviyesi takiplerinde, hypoalbuminemi olup olmadığı dikkate alınmalı ve iyonize Ca seviyesi düşük ise replasman yapılmalıdır (1, 21).

Akut pankreatit tedavisinde Total Parenteral Nutrisyon (TPN) ve barsağın dinlendirilmesi, geçmişte beslenme desteğinin sağlanması için tek yol olarak kabul edilmekteydi. Çünkü enteral beslenmenin pankreatik enzimlerin sentezini uyardığı ve hastalığı kötüleştirdiği görüşü hakimdi. Ancak hastalarda TPN'a bağlı komplikasyon riskinin arttığı bilinmektedir. Özellikle hiperglisemi ve kateter ile ilişkili sepsis bunların başında gelmektedir. 1997'den itibaren çok sayıda çalışma enteral nütrisyonun (EN) önemini vurgulamaya başlamıştır. EN, parenteral nutrisyon ile karşılaştırıldığında güvenilir olduğu, uygulanmasının daha kolay olduğu, daha az hiperglisemi yaptığı, enfeksiyon riskinde, morbidite ve diğer tüm komplikasyonlarda azalma oluşturduğu gösterilmiştir. Bunlara ilaveten EN ile akut faz cevabın iyileştiği, hastalık ciddiyetinin azaldığı sistemik inflamatuvar yanıtın (SIRS) iyileştiği, barsak devamlılığının ve bariyer fonksiyonlarının korunduğu gösterilmiştir (53, 54).

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında beslenme desteğinin enteral veya parenteral olmasına bakılmaksızın ekzokrin pankreas işlevleri ile iki temel noktada ilişkilendirildiği görülmektedir:

1. Enteral formüller düşük yağ içermeli ve pankreatik ekzokrin sekresyonu olabildiğince inhibe etmek için Trietz ligamanının distalinden verilmelidir.
2. TPN ve diğer parenteral substrat infüzyonları pankreatik ekzokrin salgıyı uyarmamaktadır.

Akut pankreatitte beslenme desteği şu şekilde özetlenebilir:

- Hafif (Ranson 1-2) akut pankreatitte beslenme desteğine gerek yoktur.
- Orta veya şiddetli akut pankreatitte, kardiyak ve solunumsal denge sağlandıktan sonra olabildiğince erken olarak beslenme desteği sağlanmalıdır.
- Başlangıçta, kusma ve aspirasyon riski olmadığına emin olana kadar parenteral solüsyonlar kullanılabilir. Bunlar, esansiyel yağ asidi açığını önleyici yağ solüsyonları içermelidir. Özel aminoasit formülasyonu önerilmemektedir.
- Tanı ve sağaltım amaçlı cerrahi girişim gerektiren hastalara ise operasyonda beslenme jejunostomisi mutlaka konmalı, cerrahi girişim yapılmayacaksa stabilite sağlandıktan sonra nazogastrik tüp yolu ile olabildiğince hızlı bir şekilde enteral beslenmeye geçilmelidir. Bu amaçla yağlı, yüksek omega-3-yağ asidi, Glutamin ve Argininden zengin solüsyonlar yeğlenmelidir (1, 21, 52).

Akut pankreatitte ölüm nedenlerinden birisi sekonder pankreatik infeksiyonlardır. Pankreatit çoğunlukla başlangıç aşamasında infektif olmayan ortamda gelişir. Dolayısıyla verilecek antibiyotikler tedavi edici değil, profilaktik amaçlıdır. Enfestasyonda rol oynayan belli başlı ajanlar E. Coli (en sık), Enterobacter ve Klebsiella türleridir (52). Akut pankreatitte antibiyotikler de dahil olmak üzere pek çok ilacın yararı olmadığı gösterilmiştir (21). Ampisilin, pankreasa ve asiner hücrelere penetre olamamaktadır (52). Pankreatitte kullanılabilecek antibakteriyel ajan sadece yukarıda belirtilen etkenleri ortadan kaldırmakla yetinmemeli, aynı zamanda etkin doku konsantrasyonları da sağlamalıdır. Pedrzolli ve arkadaşlarının prospektif, randomize multisentrik çalışmasında ise tomografi ile ilk 72 saat içinde tümünde nekroz saptanmış 74 hasta kullanılmıştır. Bu hastalardan bir grubuna imipenem, diğer grubuna ise saline enjekte edilmiş, sonuçta; imipenemin mortalite ve organ yetmezliğini etkilemediği, ancak pankreatik ve nonpankreatik sepsiste anlamlı azalma olduğu vurgulanmıştır (55). Yapılan klinik ve farmakokinetik çalışmalar sonrasında imipenem, siprofloksasin, ofloksasin ve mezlosilin tek başlarına ya da metronidazol ile kombine kullanımlarında pankreatik infeksiyonlu

hastalarda yüksek bakterisidal etkinlik, yeterli pankreas ve nekrotik doku konsantrasyonu ve optimal terapötik etkinlik sağlanmıştır (1,21,52).

Akut pankreatitte infeksiyonun en sık kaynağı barsaklardan periton boşluğuna bakteri translokasyonudur. Bunu önlemenin en doğru yolu gastrointestinal sistem (GİS) fizyolojisini korumaktır ve bu da en kolay erken enteral nutrisyonla sağlanabilir.

Pankreas ekzokrin salgısının azaltılması da medikal tedavide yer almasına rağmen kullanılan ajanların mortalite ve morbidite üzerine etkileri yoktur. Antikolinergikler, kolesistokinin reseptör antagonistleri, glukagon, kalsitonin, somatostatin, peptid Y gibi ajanlar pankreas ekzokrin salgısının azaltılması için kullanılmıştır (1, 21, 52).

Somatostatin, 14 amino asitten oluşan bir polipeptid hormondur. Asıl olarak pankreas delta hücrelerinden salgılanır. Ancak çok az da olsa GİS, genitouriner sistem, beyin, sürrenal medulladan da salgılanır. Bilinen tüm endokrin ve ekzokrin salgıları inhibe eder, intestinal motiliteyi yavaşlatır ve splanknik alanda kan akımını azaltır. Somatostatin enjeksiyonu deneysel pankreatit modelinde eritrosit akım hızını ve kan akımını artırır, glikoz intoleransını düzeltir, sağaltımda yardımcı olabilir (56). Akut pankreatit tedavisinde tek kullanım amacı; pankreas sekresyonunun azaltılmasıdır. Pratik klinik kullanımda doğal somatostatin ve bunun analogu olan Octreotid kullanılır.

Süperoksit dismutaz ve katalaz gibi serbest oksijen radikal yakalayıcıları ile allopürinol gibi xantin oksidaz inhibitörleri deneysel aşamada pankreatit seyri üzerinde etkili oldukları gösterilen diğer moleküllerdir (57).

Yüz yirmi bir ağır pankreatitli hastayı kapsayan randomize çalışmada, Neoptolemos ve arkadaşları konvansiyonel tıbbi tedavi grubunda ERCP ve endoskopik sfinkterotominin (ES) morbiditeyi %61'den %24'e indirdiğini göstermişlerdir (58). Daha yakın zamanda Fan ve arkadaşları hastalarda semptomların başlamasından itibaren ilk 72 saat içinde ERCP/ES yapıldığında biliyer sepsis insidansının düştüğünü göstermişlerdir (59). Fakat bu girişimlerin pankreas nekrozunu önlediği veya seyrini düzelttiğine dair kanıtlar yoktur. Ayrıca ERCP'de retrograd enjeksiyon enfeksiyona neden olabilir. Büyük miktarda nekrozu olan hastalarda steril nekrozun ERCP sonrasında enfekte nekroza dönüşmesi ciddi

risktir. ERCP/ES şiddetli pankreatit olan hastalarda (Ranson>3, pankreasta nekroz, pseudokist ve abse gibi lokal komplikasyonlar gelişen), sarılık ve kolanjit gelişen hastalarda acil dekompresyon amacıyla kullanılmalıdır (52).

Akut ödematöz pankreatit, pankreatit olgularının yaklaşık %80 ini oluşturur, sıklıkla olay kendini sınırlar. Geriye kalan grup ödematöz pankreatite sitokin aktivasyonu ve pankreatik nekrozun eklendiği şiddetli pankreatit gruptur (60). Bu olaylarda rol alan proinflamtuvar sitokinler IL-1 B, TNF α , IL-6, IL-8 ve PAF'dır. TNF α bu sitokinler arasında en kritik rol oynayandır (37, 38). Anti TNF α ile tedavi yapılan deneysel çalışmalarda pankreatitin şiddetini azalttığına dair bulgular elde edilmiştir (61-64). Biz de çalışmamızda yeni moleküllerden olan anti TNF α blokeri Adalimumab'ın etkinliğini araştırdık.

2.3.6.2. Cerrahi Tedavi

Akut pankreatitin cerrahi tedavisi için (komplikasyonlar dışında) en önemli endikasyon infekte nekrozdur. Şiddetli akut pankreatitlerin yaklaşık yarısı infekte olur ve bu durum karşımıza infekte nekroz ve/veya peripankreatik abse olarak ortaya çıkar.

Şiddetli akut pankreatitte cerrahi tedavinin iki amacı vardır:

- Nekrotik dokuları temizlemek
- Serbest pankreas salgısını dışarı drene etmek

Nekrotizan pankreatit yüksek oranda belirsizlikler içeren, ağır seyirli ve heterojen seyreden bir tablo olduğundan değişik cerrahi prosedürler önerilmiştir. Bunlar arasında pankreatektomi (total yada subtotal), perkütan drenaj, nekrozektomi ve drenaj, nekrozektomi ve triple ostomi (gastrostomi + jejunostomi + koledok T tüp drenaj), nekrozektomi ve sürekli periton lavajı (Beger tekniği), nekrozektomi + planlı relaparotomiler için açık karın gibi seçenekler mevcuttur (1, 21, 52).

2.3.7. Komplikasyonlar

Pankreatitin komplikasyonları yaşamı tehdit etmeye, tedavi maliyetinin artmasına, tedavi süresinin uzamasına ve bu nedenle hastada psikolojik strese neden olur. Bu komplikasyonlar tablo 3'de gösterilmiştir

Tablo 3: Akut Pankreatitin komplikasyonları (1, 18, 21, 52, 65)

I – Pankreatik
1 – Nekroz: steril yada infekte
2 – Psödokist oluşumu: İnfeksiyon, rüptür, hemoraji
3 – Apse oluşumu
II – Lokal Ekstrapankreatik
1 – Pankreas komşu organlara ait: İntraperitoneal kanama, gastrointestinal kanama, splenik ven, süperior mesenterik ven, portal ven trombozu, barsak nekrozu
2 – Pankreatite bağlı asit oluşumu
3 – Tıkanma sarılığı
III – Sistemik komplikasyonları
1 – Solunum sistemi komplikasyonları
a – Erken arteryel hipoksi
b – Atelektazi, pnömoni, plevral efüzyon
c – ARDS
2 – Kardiyak: Şok, perikardiyal efüzyon, aritmi, EKG değişiklikleri
3 – Hematolojik: Dissemine İntravasküler Koagüasyon (DİK)
4 – Gastrointestinal: Kanama, kolon nekrozu, ileus
5 – Böbrek: Azotemi, oligüri, böbrek yetmezliği
6 – Metabolik: Hipokalsemi, hiperglisemi, hipertrigliseridemi, asidoz
7 – Kranial Sistem: Psikoz, pankreatik ensefelopati, Purtscher’s retinopati
8 – Yağ nekrozu
9 – Çeşitli: artrit, rabdomiyoliz

2.4. Çalışmada kullanılan parametreler

2.4.1. Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α)

TNF geni 6. kromozom üzerinde majör histokompatibility complex (MHC) gen lokusunun içinde human lökosit antijen (HLA) class I ve II arasında yer almaktadır. Benzer biyolojik özelliklere sahip iki formu saptanmış olup bunlardan; TNF- α (kaşektin) özellikle makrofajlardan, TNF- β (lenfotoksin) ise özellikle lenfositlerden üretilmektedir. TNF- α sentezinin diğer kaynakları arasında monositler, T hücreleri,

PMNL'ler, doğal öldürücü (NK) hücreler ve endotel hücreler sayılabilir. Doku travması veya enfeksiyonlar sonucu gelişen inflamatuvar yanıt, proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- α , konakçı yanıtının oluşmasında en etkili mediatörlerden birisidir (66).

TNF- α diğer inflamatuvar sitokinlerin oluşumu ve akut faz proteinlerinin yapımı gibi yanıtların ortaya çıkmasında belirgin etkiye sahiptir. Akut travmaya yanıt olarak TNF- α salınımı hızlı ve kısa süreli olarak gerçekleşir. Endotoksin uyarısı ile akut inflamatuvar yanıt gelişimini taklit eden deneylerde TNF'ün monofazik bir eğri izlediği, 90 dakikada pik yapıp 4 saat içinde ölçülemeyecek düzeye indiği saptanmıştır. Yarı ömrü 15-18 dakika olmasına rağmen, TNF'ün kısa süreli olarak ortamda bulunması bile önemli metabolik ve hemodinamik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur. İki farklı spesifik transmembran TNF reseptörü vardır; Tip I, apoptozis, sitotoksite ve endotel hücrelerdeki adezyon moleküllerinin etkinliğini indükler. Tip II, T hücrelerinin, fibroblastların, natural killer (NK) hücrelerinin proliferasyonunu ve proinflamatuvar sitokin salınımını indükler. TNF üretiminin kısa sürmesi, ortamda regüle edilemeyecek kadar çok TNF- α aktivitesinin oluşmasını engelleyen endojen modülatörlerin olduğuna işaret eder (12).

TNF- α ayrıca PMNL aktivasyonu, migrasyonu, degranülasyonu ve superoksit yapımında artma, makrofaj diferansiasyonunda artış, IL-6 indüksiyonu, akut faz reaktanlarının yapımında artış ve vasküler endotel permeabilitesinde artışa neden olabilmektedir (12).

2.4.2. Myeloperoksidaz (MPO)

Fagositik hücrelerde bulunan lizozomal bir enzimdir. PMNL'lerin azurofil granüllerinde bol miktarda bulunur. Fagositoz sonrasında nötrofillerce bakterisidal olarak kullanılır. Bu etkiyi hidrojen peroksit ve klor iyonlarını bakteriyi öldüren hipoklorik asite çevirerek gösterir. İnflamatuvar süreçte ekstrasellüler alana salınır. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun kantitatif bir göstergesi olarak kullanılır (67).

2.4.3. Adalimumab

Adalimumab, insan tümör nekroz faktörüne karşı spesifik olan rekombinant insan immünoglobülini (IgG1) monoklonal antikordur. Adalimumab, insan ağır ve kappa hafif zincir değişken bölgeleri ve insan immünoglobülini sabit bölgeleri ile sonuçlanan faj görüntüleme teknolojisi kullanılarak üretilmiştir.

Adalimumab, Tümör Nekroz Faktör'e (TNF) spesifik olarak bağlanarak onun p55 ve p75 hücre yüzey reseptörleriyle etkileşimini bloke ederek TNF'nin biyolojik fonksiyonunu nötralize eder. Adalimumab TNF tarafından indüklenen veya düzenlenen biyolojik yanıtları da modüle eder; bunlara lökosit migrasyonundan sorumlu adezyon moleküllerinin (ELAM-1, VCAM-1 ve ICAM-1 için IC_{50} $1-2 \times 10^{10}$ M) düzeylerinin değişmesi dahildir (68).

Pankreatitte tablonun ilerlemesinden sorumlu mekanizmalardan birisi sistemik dolaşıma sitokin salınımıdır. Bu olaylarda rol alan proinflamatuvar sitokinler IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAF'dır. TNF- α bu sitokinler arasında en kritik rol oynayanıdır (37, 38). Anti TNF- α tedavi üzerine deneysel çalışmalarda pankreatitin şiddetini azalttığına dair bulgular elde edilmiştir (61-64). Biz de çalışmamızda üzerinde henüz pankreatit ile ilgili herhangi bir deneysel çalışma yapılmamış olan anti TNF- α blokeri Adalimumab'ın etkinliğini araştırdık.

3. MATERYAL VE METOD

“Ratlarda Cerulein ile oluşturulan akut pankreatit modelinde Adalimumab’ın düşük ve yüksek dozlarda etkisi” adlı tez projemiz Fatih Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi’nce P53010808-1 sayı ile maddi yönden desteklenmiş olup, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı’nın onayı ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi Müdürlüğünün izni alınarak, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

3.1.Hayvanlar

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi’nde yetiştirilen ağırlıkları 200-300 g. arasında değişen toplam 32 Wistar albino cinsi erkek rat kullanıldı. Çalışma boyunca hayvanların tümü 24°C oda ısısında, %50 nem ortamında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık periyotlar halinde, her kafeste 2 hayvan olacak şekilde korundu. Hayvanlar deney süresince operasyondan 12 saat öncesine kadar standart rat yemi ve su ile beslendi. Operasyondan 12 saat öncesinde hayvan yemi kesilerek sadece su içmelerine izin verildi.

3.2.İlaçlar

Cerulein: Sigma Sic9026-1 mg Caerulein Sulfated içeren flakon 5 cc 0.9 luk NaCl ile sulandırılarak 200µg/cc olacak şekilde dilüe edildikten sonra her seferinde 20 µg/kg verilecek şekilde 4’er kez intraperitoneal uygulandı.

Ketamine: Ketalar[®] flakon (50 mg/ml, Eczacıbaşı İlaç ve Ticaret A.Ş. İstanbul – Türkiye). 50 mg/kg dozunda intramusküler olarak anestezi sağlamak amacıyla verilmiştir.

Xylazine: Rompun[®] flakon (23.32 mg/ml, Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti. İstanbul – Türkiye). 5 mg/kg dozunda intramusküler olarak analjezi ve kas gevşetici amacıyla verilmiştir.

Adalimumab: Humira[®] (40 mg/0.8 ml enjektabl çözelti, Abbott) 0.5 mg/kg ve 1 mg/kg subkutan olarak uygulandı.

3.3. Deneysel Akut Pankreatit Modeli Oluşturulması

Pankreatit oluşturulacak gruplardaki ratlara 12 saatlik açlığı takiben, intraperitoneal yolla bir saat ara ile 4 kez, her seferinde 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Cerulein verilecek şekilde injeksiyonlar yapılarak akut ödematöz pankreatit oluşturuldu.



Şekil 1. İntraperitoneal Cerulein uygulaması



Şekil 2. Subkutan Adalimumab uygulaması

3.4.Çalışma Grupları

32 rat, 8 hayvandan oluşan 4 ayrı gruba ayrıldı.

Grup 1 (Pankreatit kontrol grubu): Bir saat ara ile 4 kez, her seferinde 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, intraperitoneal Cerulein verilerek akut pankreatit oluşturuldu.

Grup 2 (Düşük doz ilaç grubu): Bir saat ara ile 4 kez, her seferinde 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, intraperitoneal Cerulein verilerek akut pankreatit oluşturuldu. 1. saatteki Cerulein uygulaması ile birlikte 0.5 mg/kg subkutan Adalimumab uygulaması yapıldı.

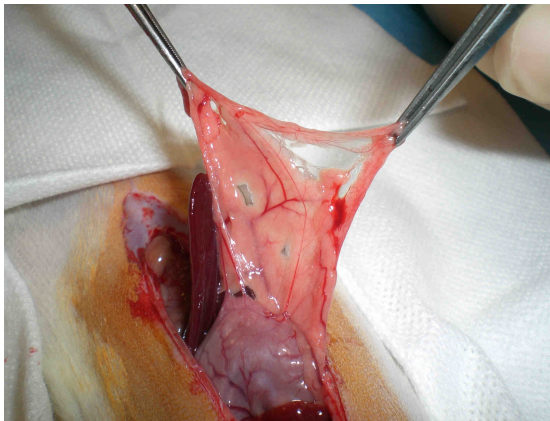
Grup 3 (Yüksek doz ilaç grubu): Bir saat ara ile 4 kez, her seferinde 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, intraperitoneal Cerulein verilerek akut pankreatit oluşturuldu. 1. saatteki Cerulein uygulaması ile birlikte 1 mg/kg subkutan Adalimumab uygulaması yapıldı.

Grup 4 (Sham grubu): Tedavi edilmeyen, sadece intraperitoneal 1 cc serum fizyolojik verilen ve daha sonra laparotomi yapılan, baz değerlerin alındığı grup.

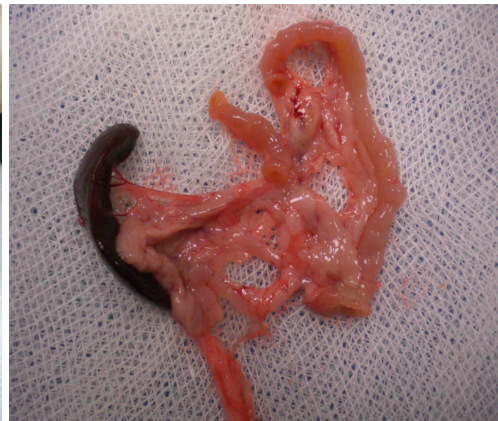
3.5. Doku ve Biyokimya Örneklerinin Alınması

Tüm ratlara 0. saatteki enjeksiyondan 24 saat sonra 50 mg/kg ketamine ve 5 mg/kg xylazine hidroklorür ile intramuskuler yoldan genel anestezi uygulandı. Çalışmaya alınan her rata operasyon öncesi dehidratasyonu önlemek amacıyla subkutan olarak 1 ml Ringer Laktat solüsyonu enjekte edildi. Çalışma süresince tüm ratların spontan olarak solunum yapmasına izin verildi. Anestezi derinliği kontrol edildikten sonra ratların karın bölgeleri traşlandı ve %10 Povidone-iodine solüsyonu ile temizlenerek steril şartlar altında 4 cm'lik orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı.

Tüm ratlar total pankreatektomi uygulamasını takiben intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edildi. Alınan kan örneklerinin 3 ml'si standart düz tüpe, 3 ml'si EDTA'lı tüpe kondu. Pankreas dokusu ikiye bölünerek yarısı %10'luk formalin dolu kaba, diğer yarısı hemen bir kap içinde -80°C ' ye kondu.



Şekil 3. Örneklenen pankreas dokusu



Şekil 4. Çıkarılan spesmen

3.6. Histopatolojik İncelemeler

Histopatolojik analiz: 24 saat süreyle %10'luk formalinde tespit edilmiş ve parafin emdirilmiş pankreatik dokudan 5 μm kesitler alındıktan sonra bu kesitler hematoxilen-eozin (HE) ile boyandı. Örnekler histopatolojik pankreatit skorlaması için dokuların hangi gruptan alındığından haberi olmayan bir patolog tarafından rastgele bir şekilde incelendi. Pankreatik dokudaki ödem, inflamasyon ve nekroz varlığı histopatolojik olarak değerlendirildi. Histopatolojik değişiklikler Yuan ve arkadaşları tarafından tarif edilen skorlama kriterleri kullanılarak değerlendirildi (69) (Tablo 4).

Tablo 4: Pankreas Histopatolojik Skorlaması (BBA: Büyük Büyütme Alanı)

Histopatolojik değişiklikler	Puan				
	0	1	2	3	4
Ödem	Yok	İnterlobar hafif	İnterlobar şiddetli	İnterasiner	İntersellüler
Nekroz	Yok	%1-10	%11-20	%21-30	>%30
Hemoraji	Yok	Var			
İnflamasyon (nötrofil lökosit sayısı / BBA)	0-1	2-10	11-20	21-30	>30

İmmunhistokimyasal analiz: 24 saat %10'luk formalinde tespit edilmiş ve parafin emdirilmiş pankreatik dokudan kesitler alındıktan sonra bu kesitler apoptozisi araştırmak üzere Terminal deoxynucleotidyltransferase-mediated UTP nick-end labeling assay (TUNEL) ile immunhistokimyasal olarak incelendi. Bu amaçla ApopTag® Plus Peroxidase *In Situ* Apoptosis Detection Kit (S 7101, Chemicon, Germany) kullanıldı. 5 µm kalınlığında parafin emdirilmiş kesitler 56°C'de bir gece inkübe edildi. Deparafinizasyon ve %3 hidrojenperoksidad ile endojen peroksidad inaktivasyonunu takiben 20 µg/ml proteinaz K (Chemicon-21627, Germany) ile 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra insitu apoptozis ölçümü için Apoptag peroksidad kullanılarak üretici firmanın klavuzuna göre TUNEL değerlendirildi. Bu yöntemde preparatlar önce en az 15 saniye süreyle "equilibrating" buffer 75 µl içinde tutulduktan sonra TdT enzimi ile 37 °C de 1 saat süreyle inkübe edildi. Stop/wash buffer ile 15 saniye yıkandıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika tutuldu. Daha sonra antidigoksinin peroksidad ile oda sıcaklığında 30 dakika süreyle inkübe edildi. Son olarak peroksidad boyaması için diaminobenzidine (DAB) ile inkübe edilen kesitlere karşıt boyama için %1 methyl green 10 dakika uygulandı. Her bir kesit ışık mikroskopunda X400 büyütmede dokuların hangi gruptan alındığından haberi olmayan bir patolog tarafından randomize bir şekilde değerlendirildi. BBA da TUNEL pozitif hücreler sayıldı ve toplam 10 BBA da sayılan hücreler hücre sayısı/büyük büyütme alanı olarak belirlendi (70).

3.7. Biyokimyasal İncelemeler

Alınan kan örnekleri 4⁰C' de, 10 dakika 4000 devirde santrifüj edilerek plazma ve serum ayrıldı.

3.7.1. Serum Amilaz, Lipaz

Amilaz ve lipaz düzeyleri Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında COBAS INTEGRA 800 Roche (İsviçre) cihazında analiz edildi. Değerler mU/L olarak ifade edildi

3.7.2. CRP

CRP düzeyleri Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Laboratuvarında BECKMAN COULTER IMAGE (ABD) cihazı ile nefelometrik olarak analiz edildi. Değerler mg/L olarak ifade edildi.

3.7.3. Lökosit sayımı

Beyaz küre düzeyleri Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Laboratuvarında BECKMAN COULTER HMX (ABD) cihazında analiz edildi. Sonuç x10⁹ L olarak ifade edildi.

3.7.4. Serum TNF- α

Serum TNF- α düzeyleri ELISA (Enzyme Linked- Immuno-Sorbent Assay) yöntemi ile BioSource International, Inc. (California, USA) Rat TNF- α kiti kullanılarak ölçüldü. Değerler pg/mL olarak ifade edildi.

3.7.5. Doku Myeloperoksidaz ölçümü

MPO ölçümü için kullanılan Lowry metodunun prensibi H₂O₂'in homojenattaki MPO tarafından oksitlenirken reaksiyon karışımında bulunan o-dianisidin redüklenmesi ve redükte o-dianisidinin 410 nm dalga boyundaki ışığı absorplaması esasına dayanır (71). 100 mg pankreas dokusu 1 ml soğuk 20mM potasyum fosfat tamponu (KPO₄) (pH: 7.4) ile yaklaşık 1 dakika homojenize edildi. Homojenattan 1'er ml alınıp ependorf tüplerine kondu ve 13.500 rpm'de 30 dakika +4 °C'de soğutmalı santrifüjde santrifügasyon yapıldı. Süpernatant atılıp pellet

%0.5heksaadesil trimetilamonyum bromid (HETAP) içeren 1 ml 50mM KPO₄ tamponu (pH: 6.0) ile çözülp 90 sn sonike edildi. Bu numuneler 60°C'de 2 saat inkübe edilip, 13.500 rpm'de 30 dakika +4 °C'de santrifüj edildi. Süpernatan yeni ependorf tüplerine aktarıldı. Daha sonra numuneler 37°C'de 30 dakika su banyosunda bekletildi. Sonra her bir tüpe 200µl 3 M'lık HCl asit eklenir ve 410 nm de okutuldu. Sonuçlar U/g doku olarak hesaplandı.

3.8. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS® ver. 13 (Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanılarak bilgisayar ortamına alındı ve istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı. Şekil ve tablolardaki tüm değerler ortalama (mean,M) ± standart hata (SEM) olarak belirtilmiştir. Grupların dağılımlarının normal olup olmadığı Shapiro-Wilk test ile saptandıktan sonra, dağılımı normal olan grupların karşılaştırılması için ANOVA (kilo, MPO, amilaz ve CRP için), dağılımı normal olmayan grupların karşılaştırılması için Mann-Whitney *U* Testi (TNF- α , lipaz, lökosit, ödem, nekroz, inflamasyon, TUNEL ve Pankreas histopatolojik skorlaması için) kullanıldı. P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızın hazırlık, pankreatit oluşturulması ve operasyon safhalarında ratların hiçbirinde mortalite olmadı.

4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. Serum ve Plazma İnceleme Bulguları

Her gruptaki ratlardan biyokimyasal çalışmalar için 3 ml, hematolojik çalışmalar için 3 ml kan örnekleri alındı. Biyokimyasal kan örneklerinden amilaz, lipaz, TNF- α , CRP, Lökosit, değerleri çalışıldı. Pankreatik doku örnekleri MPO Lowry yöntemi kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar gruplara göre ortalama değerleri (M) \pm standart hata (SEM) olarak tablolandırıldı (Tablo biyokimya).

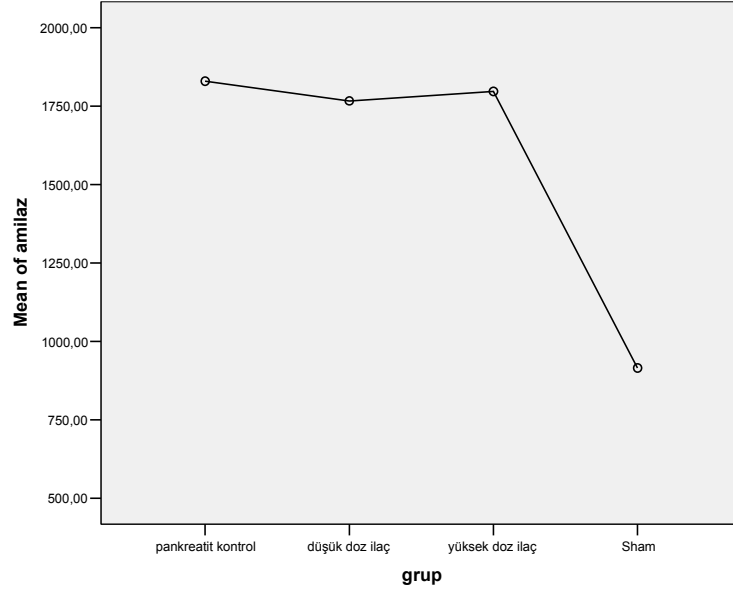
Tablo 5: Biyokimyasal bulgular (M \pm SEM).

	AÖP	AÖP + Düşük doz ilaç	AÖP + Yüksek doz ilaç	Sham
Amilaz (mU/L)	1829,62 \pm 304,75	1767 \pm 158,21	1797,57 \pm 221,48	91,25 \pm 41,57
Lipaz(mU/L)	15 \pm 2	10,75 \pm 1,33	11,14 \pm 1,73	5,5 \pm 0,18
TNF-α(pg/mL)	47,68 \pm 26,31	7,12 \pm 0,87	4,33 \pm 0,35	4,32 \pm 0,34
CRP (mg/L)	2,32 \pm 0,38	2,39 \pm 0,17	1,65 \pm 0,47	2,28 \pm 0,18
Lökosit(x10⁹ L)	3962 \pm 26,3	6037 \pm 545	5357,4 \pm 430,86	4362 \pm 988,13

AÖP: Akut ödematöz pankreatit

Amilaz düzeyleri: AÖP, AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları arasında serum amilaz seviyeleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,996$, $p=1.00$). Ancak Adalimumab kullanan gruplarda serum amilaz seviyeleri kullanılmayanlara göre daha az artmıştı. AÖP, AÖP + Düşük doz Adalimumab, AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları ile Sham grubu amilaz değerleri karşılaştırıldığında, Sham grubuna göre diğer gruplarda amilaz düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,017$, $p=0.028$, $p=0.028$). Düşük ve yüksek

doz Adalimumab grupları arasında serum amilaz seviyeleri bakımından anlamlı bir fark yoktu ($p=1.0$).



Şekil 5. Gruplarda amilaz düzeyleri (mU/L)

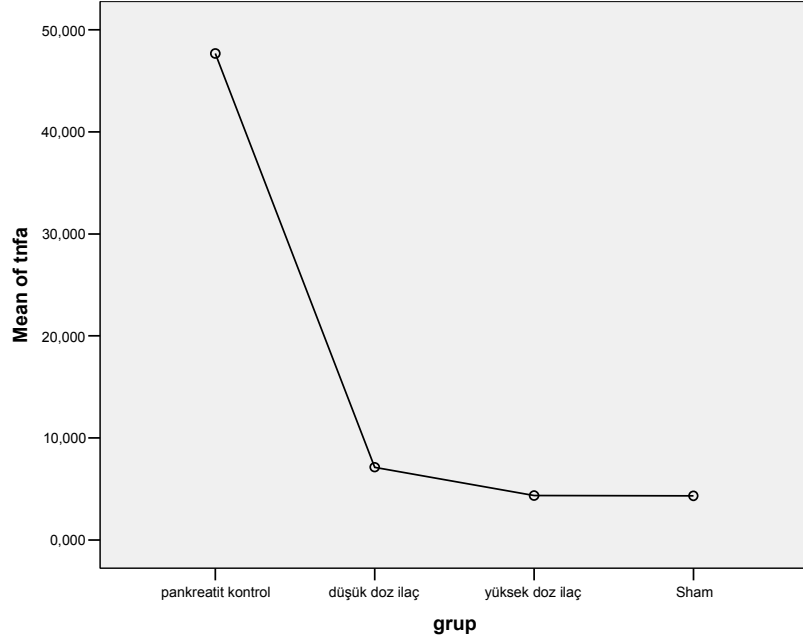
Lipaz düzeyleri: Serum lipaz seviyeleri açısından AÖP, AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,147$, $p=0.131$, $p=1.000$). AÖP, AÖP + Düşük doz Adalimumab, AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları ile Sham grubu lipaz değerleri karşılaştırıldığında, Sham grubuna göre diğer gruplarda lipaz düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,001$, $p=0.001$, $p=0.004$).

CRP düzeyleri: AÖP, AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab, Sham grupları arasında CRP düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.240$).

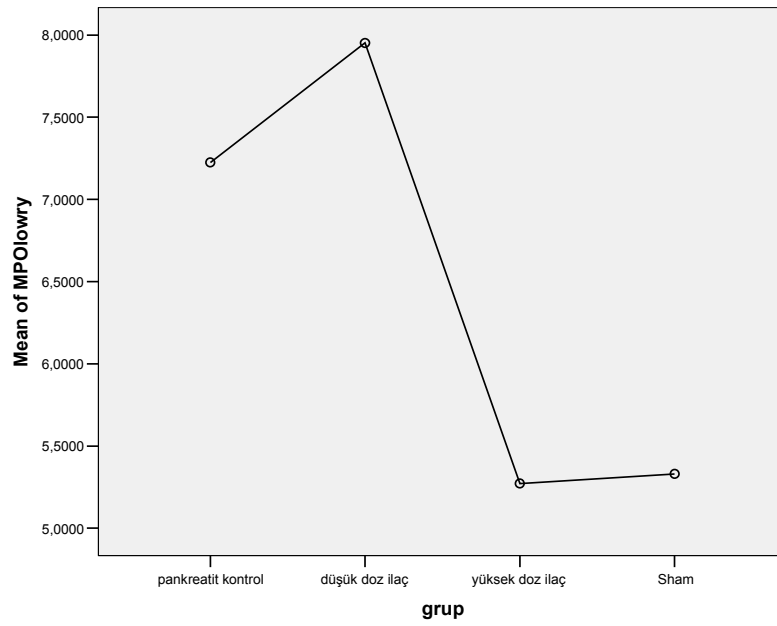
Lökosit sayısı: AÖP, AÖP + Düşük doz Adalimumab, AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları ve Sham grubu arasında lökosit değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.147$, $p=0.157$, $p=0.146$).

Serum TNF- α düzeyleri: AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab gruplarında serum TNF- α seviyeleri AÖP grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p=0.011$, $p=0,014$). AÖP grubu ve AÖP + Düşük doz Adalimumab gruplarındaki TNF- α değerleri Sham grubuna göre anlamlı olarak daha

yüksek bulunmuştur ($p= 0.014$, $p= 0,012$). Sham ile AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları arasında TNF- α değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0,908$). AÖP + Düşük doz Adalimumab grubunda TNF- α değerleri AÖP + Yüksek doz Adalimumab grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p= 0,028$).



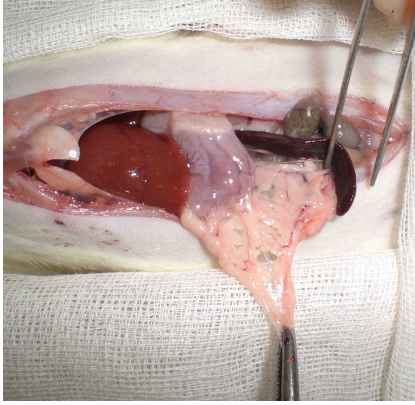
Şekil 6. Graplarda TNF- α düzeyleri (pg/mL)



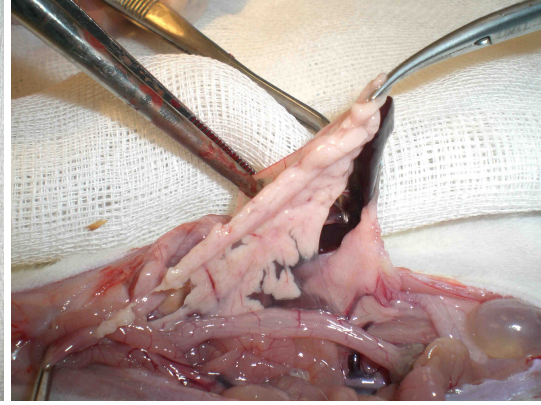
Şekil 7. Graplarda MPO aktivitesi düzeyleri (U/g)

4.1.2. Pankreas dokusu MPO düzeyi

Pankreas dokusunda Lowry yöntemi ile ölçülen MPO seviyeleri açısından AÖP ile Sham grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,556$). Ortalama pankreas dokusunda MPO seviyeleri, AÖP grubunda $7,22\pm1,95$, AÖP+ düşük doz Adalimumab grubunda $7,95\pm1,46$, AÖP + yüksek doz Adalimumab grubunda $5,27\pm0,96$, Sham grubunda $5,33\pm1,14$ olarak bulunmuştur. AÖP ve düşük doz Adalimumab grupları ile Sham ve yüksek doz Adalimumab grupları ortalamaları arasında fark olmasına rağmen bu fark istatistiki olarak anlamlı değildir ($p=0,984$, $p=0,770$, $p=0,556$, $p=0,786$). Gruplar arası MPO seviyeleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,456$).



Şekil 8. Sham grubu

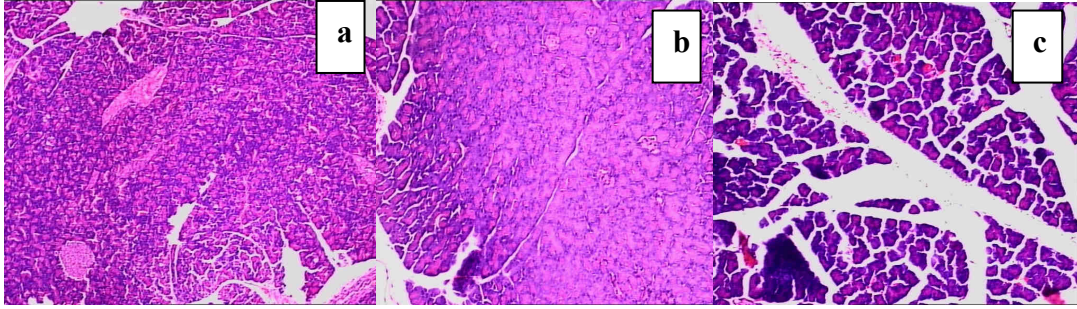


Şekil 9. Akut pankreatit kontrol grubu

4.2.Histopatolojik bulgular

Pankreas dokusu histopatolojik skorlaması, pankreasta ödem, asiner nekroz, hemoraji ve yağ nekrozu, inflamasyon ve perivasküler infiltrat derecesine göre yapıldı. Sonuçlar gruplara göre ortalama değerleri (M) \pm standart hata (SEM) olarak tablolandırıldı (Tablo 6).

Sham grubu ile AÖP karşılaştırıldığında anlamlı olarak AÖP grubunda ödem artmıştır ($p=0,000$). AÖP, AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında Adalimumab kullanılan gruplarda anlamlı olarak daha az ödem saptanmıştır ($p=0,001$, $p=0,001$). Adalimumab kullanılan gruplar ile Sham grubu arasında ödem bakımından fark olmadığı bulunmuştur ($p=0,317$, $p=0,143$).



Şekil 10. Normal pankreas dokusu ve ödem **a.** Normal pankreas dokusu, **b.** İnterlobler ödem, nötrofil lökosit, nekroz, **c.** İnterlobler ve İnterasiner ödem

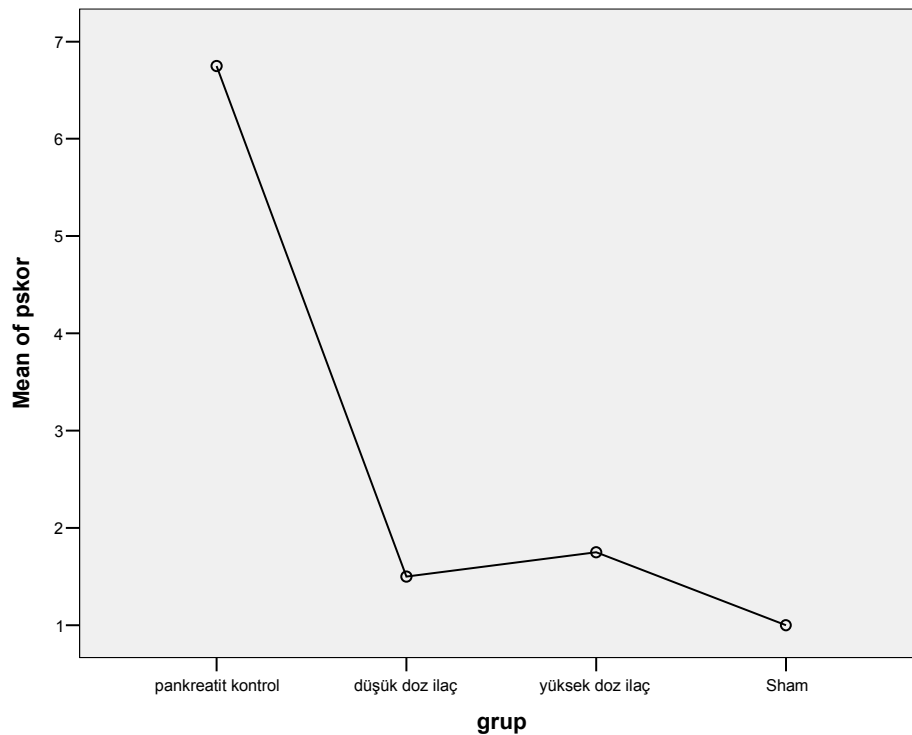
Pankreatik dokuda asiner nekroz açısından değerlendirildiğinde AÖP ve AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında AÖP grubunda Adalimumab gruplara göre anlamlı olarak daha fazla asiner nekroz saptanmıştır ($p=0.001$, $p=0.000$). Benzer şekilde AÖP grubunda Sham grubuna göre anlamlı olarak asiner nekroz artışı saptanmıştır ($p=0.001$). AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında asiner nekrozda anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,317$). Sham, AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında asiner nekroz açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.317$, $p=1.000$).

Tablo 6: Histopatolojik bulgular (M±SEM)

	AÖP	AÖP + Düşük doz ilaç	AÖP + Yüksek doz İlaç	Sham
Ödem	2.75±0.25	0.5±0.19	0.63±0.28	0.25±0.16
Nekroz	1.88±0.23	0.13±.12	0	0
İnflamasyon ve perivasküler infiltrat	2.13±0.23	0.88±0.23	1.13±0.23	0.75 ± 0.16
Tünel	23.13±2.7	0.75±0.41	0.13±0.12	0.88±0.35
Pankreatik histopatolojik skor	6.75±0.41	1.5±0.33	1.75±0.31	1.0±0.27

Deneysel akut ödematöz pankreatit oluşturulan çalışmamızda beklentimize uygun şekilde hiçbir grupta yağ nekrozu ve hemoraji saptanmamıştır.

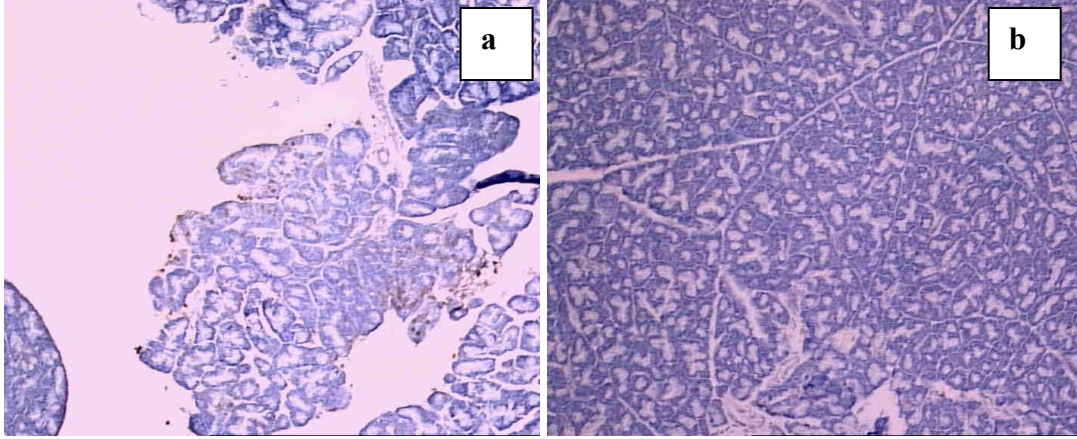
İnflamasyon ve perivasküler infiltrat açısından değerlendirildiğinde AÖP grubunda Sham grubuna göre bu değerler anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p=0,001$). AÖP, AÖP + Düşük doz Adalimumab, AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında ilaç kullanılan gruplarda inflamasyon ve perivasküler infiltrat anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ($p=0,004$, $p=0.011$). AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.429$). Sham grubu ile düşük ve yüksek doz Adalimumab verilen gruplar arasında da benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.699$, $p=0.328$).



Şekil 11. Grupların pankreatit histopatolojik skorlaması

Yuan ve arkadaşları (69) tarafından kullanılan Pankreas Histopatolojik Skorlaması bakımından hastalar değerlendirildiğinde Sham grubu ile AÖP grubu karşılaştırıldığında AÖP grubunda anlamlı olarak skorun daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0.000$). AÖP grubunda skor AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur

($p=0.001$, $p=0.000$). AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında histopatolojik skorda anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,497$). Sham, AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında pankreatik histopatolojik skoru açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.264$, $p=0.105$).



Şekil 12. Apoptozis **a.** Pankreatitte apoptozis, **b.** Düşük doz Adalimumab ile tedavi grubunda apoptozis izlenmemekte

TUNEL metodu ile yapılan apoptotik hücre sayımı açısından gruplar değerlendirildiğinde, AÖP grubunda Sham grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p=0,001$). AÖP, AÖP + Düşük doz Adalimumab, AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında ilaç kullanılan gruplarda apoptozis anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0,000$, $p=0.000$). AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.214$). Sham grubu ile AÖP + Düşük doz Adalimumab ve AÖP + Yüksek doz Adalimumab grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.726$, $p=0.161$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Akut pankreatitte pankreas asiner hücrelerdeki proteolitik enzimlerin aktive olması sonucu pankreatik hasar gelişir (1). Bu hasarın yaptığı uyarı ile proinflamatuvar sitokinler ve diğer faktörler salınır, bunun sonucunda lokal ve sistemik inflamasyon gelişir (72).

Akut pankreatitte değişik tedavi uygulamalarına rağmen uzak organ yetmezliği ve mortalite oranları istenilen derecede düşürülememiştir. Şiddetli pankreatitli veya uzak organ yetmezliği olan ve sıklıkla yoğun bakım ihtiyacı ya da cerrahi müdahale gerektiren hasta grubunda mortalite %40'lara ulaşabilmektedir (2, 3). Dolayısıyla, hastalığa neden olan patofizyolojik mekanizmaların düzeltilmesine yönelik yeni ilaçlar veya tedavi yöntemleri geliştirilebilirse, akut pankreatit'in kötü seyri değiştirilebilir.

Deneysel pankreatit modellerinin amacı insan pankreatitine benzer özellikte patoloji oluşturup, insanda gelişen hücresel ve glandüler bozuklukların benzerinin ortaya konmasıdır. Benzerlik oranının artmasıyla pankreatit patofizyolojisinin aydınlanmasına ve komplikasyonlardan koruyacak uygun tedavi modalitelerinin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır. Pek çok deneysel pankreatit modeli oluşturulmuş ancak hiçbirinin tam olarak insan pankreatiti ile uyumu sağlanamamıştır. Bu nedenle deneysel çalışmaların etkinliği kabul edilmeden önce sorgulanmalıdır. Patogenez göz önüne alındığında, deneysel modellerin çoğu klinik uygunluk göstermektedir. Ödematöz-interstisiyel pankreatit için kolesistokinin veya Cerulein ile hiperstimülasyon oluşturulan pankreatit, Nekrotizan pankreatit formu için duktal enjeksiyon ya da kolinden fakir, etiyoninden zengin diyetle oluşturulan pankreatit örnek gösterilebilir (75-77). İnsan pankreatitinde (alkolik ya da biliyer) hastalığı başlatan ilk basamak bilinmemektedir. Diyet ya da hiperstimülasyon modeli, alkolik pankreatite, duktal enjeksiyon modeli ise biliyer pankreatite benzemektedir (78). Bu modellerle ilgili çalışmalarda en kritik nokta, hayvanlardaki tedavi modalitelerinin klinik önemi olup olmadığıdır. Geçmişte pankreatitle ilgili hayvan deneylerinde pozitif sonuç alınan ajanların hemen hepsinin insanlardaki çalışmalarda olumsuz sonuç verdiği bilinmektedir (79, 80). Etik

nedenlerle deneysel olarak insanda pankreatit oluşturulmasının imkansız olması, genel olarak pankreatitli hasta sayısının yetersizliği ve buna bağlı olarak istatistiksel analizin mümkün olmaması deneysel anlamda insan çalışmalarının problemleri olarak sayılabilir. Diğer bir açık nokta ise hayvanlarda tedavi protokollerinin hemen başlatılabilmesine karşın, klinikte akut pankreatit geçirmekte olan hastalar genelde hastaneye 12- 36 saat sonra başvurdukları için, tedaviye hemen başlanamamaktadır. Sonuçta; pankreatit tedavisinde kullanılması öngörülen ilaçların insanlara deneysel olarak uygulamada zorluk bulunması yanı sıra, yüksek maliyet, yeterli olgu sayısı temin etmek için uzun sürelere ihtiyaç olması gibi sınırlayıcı faktörler vardır. Bu nedenle bu çalışmada kolay uygulanabilirlik ve insan pankreatitine benzerlik göz önünde tutularak Cerulein ile oluşturulan pankreatit modeli kullanıldı.

Akut pankreatitte inflamatuvar cevap gelişiminde proinflamatuvar sitokinler ve oksidatif stres, benzer sinyal iletim yollarını tetikleyerek inflamatuvar reaksiyonu sinerjik şekilde uyarır. Bu uyarı temel olarak mitojenle aktive olan protein kinazlar ve nükleer faktör kappa beta aktivasyonu ile gerçekleşir. Ayrıca başta TNF- α olmak üzere proinflamatuvar sitokinler ve oksidatif stres, birbirini tetikleyerek akut pankreatitte kısır bir döngü oluşmasına neden olur (81).

TNF, 19 farklı üyesi olan bir molekül ailesidir. TNF kendisine ait olan membrana bağlı reseptörler üzerinden etki gösterir. TNF- α (kaşektin), TNF- beta (lenfotoksin) bu grubun ilk tanımlanan üyeleridir. TNF, doğal ve kazanılmış bağışıklık, hücre regülasyonu, farklılaşma ve apoptoz süreçlerinde önemli rollere sahip polipeptid yapıda bir sitokindir. Başta makrofaj ve lenfositler olmak üzere immün ve somatik hücrelerde sentezlenir. TNF sentez ve salınmasını başlatan birçok uyarıcı vardır. Bunların başlıcası lipopolisakkarittir. Gram-pozitif bakteriler, mantarlar, parazitler, kompleman aktivasyon ürünleri, çeşitli sitokinler ve TNF'nin kendisi TNF salınımını uyarır.

TNF- α blokerleri yeni bir grup olmasına rağmen ankilozan spondilit, romatoid artrit, psöriazis, psöriyatik artrit, juvenil romatoid artrit ve Crohn hastalığında kullanılmaktadır (82-84). Etanercept, Talidomid, Infliximab, Adalimumab, Certolizumab klinik kullanımda olan TNF- α blokerleridir. Malleo ve arkadaşları (11,12), Cerulein ile deneysel pankreatit oluşturdukları 60 mice ile yapılan çalışmalarında, Etanercept (p75 reseptör formu) kullanımının amilaz, lipaz

seviyelerinin, MPO aktivitesinin ve pankreatitteki histolojik değişikliklerin anlamlı olarak azaldığını bildirmişlerdir. Oruç ve arkadaşları da (85) Cerulein ile deneysel akut ödematöz pankreatit oluşturdukları ratlara Infliximab (insan ve müren kökenli kimerik) vererek, amilaz düzeyinde azalma, histopatolojik skorda düşüklük, nötrofil ve MPO aktivitesinde supresyon saptamışlardır. Malleo ve arkadaşlarının (11,12) 40 mice üzerinde yaptıkları benzer bir Cerulein ile oluşturulan deneysel akut pankreatit modeli çalışmasında, Talidomid (monositlerden TNF- α sentez inhibisyonu) kullanımı ile pankreatik değişikliklerde, amilaz, lipaz, TNF- α ve IL-1 düzeyleri, ödem, MPO aktivitesi, immünohistokimyasal olarak inflamatuvar sitokinler, lökosit adezyon molekülleri, transforming growth faktör, vasküler endotelial growth faktör ve apoptozis ile ilişkili proteinler de azalma saptadıkları bildirmişlerdir. Adalimumab ankilozan spondilit, romatoid artrit, psöriyatik artrit, juvenil idiopatik artrit ve Crohn hastalığı endikasyonları ile insanlarda kullanılmaktadır. Literatür araştırmamızda akut pankreatit tedavisinde Adalimumab kullanımını bildiren deneysel hayvan çalışması ya da insanlar üzerinde yapılmış herhangi bir araştırma bulunmadığını saptadık. Adalimumab'ın diğer TNF- α blokerlerinden farkı hücre yüzeyindeki p55 (birçok biyolojik etkinin başlamasında görevli) ve p75 (yardımcı reseptör) reseptörlerini birlikte bloke edebilen özellikte olmasıdır (68).

Akut pankreatit tanısında amilaz ve lipaz spesifik değildir. Akut pankreatitin şiddeti ile lipaz ve amilaz düzeyleri arasında korelasyon bulunmadığı için birçok otör bu incelemelerin hastalığın şiddetini belirlemede kullanılamayacağı görüşündedir (86, 87). Ancak tanı koymada ve klinik takipte bu testlere çok fazla önem verilmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Deneysel pankreatit modeli oluşturularak yapılan çalışmaların hepsinde, pankreatit oluşturulan hayvan gruplarında serum amilaz ve lipaz düzeylerinde yükselme saptanmıştır (11, 12, 85). Benzer şekilde çalışmamızda da pankreatit oluşturulan grupların hepsinde, Sham grubuna göre pankreatik enzimlerde anlamlı olarak yükselme saptadık. Adalimumab verilen gruplar ile pankreatit kontrol grubunun ortalama lipaz ve amilaz değerleri birbirine yakın seviyelerde bulunmuş olup aralarında istatistiksel fark gözlenmemiştir. Hastalığın klinik seyri, psödokist gibi komplikasyonların geliştiğinin fark edilmesi bu enzimlerin takibine bağlı olduğundan, Adalimumab kullanımı hastaların klinik takibini etkilemeyecektir.

Hastalığın şiddetini belirleyen en önemli klinik parametrelerden birisinin CRP düzeyi takibi olduğu konusunda otörler arasında ortak bir görüş mevcuttur (88, 89). Çalışmamızda gruplar arasında CRP düzeyi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bunun muhtemel sebebi, deney hayvanları sakrifiye edildiği zaman (24. saat) henüz CRP seviyesinde anlamlı yükselme olacak kadar süre geçmemiş olmasıdır. Bunun için gerekli süre semptomların başlangıcından itibaren 48-72 saattir (90).

Akut pankreatit sistemik inflamatuvar bir cevap oluşturur, dolayısıyla başlangıçtaki lökosit yüksekliği buna bağlıdır. Hastalığın ilerleyen zamanlarında bu yükseklik hastalığa eklenen sekonder enfeksiyonun bir sonucu olabilir (88). Çalışmamızda da lökosit düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bunun nedeni gruplara verilen Adalimumab'ın sistemik inflamatuvar cevapta önemli rolü olan TNF- α 'yı baskılamasıdır.

Cerulein ile oluşturulan akut ödematöz pankreatit modellerinde TNF- α blokerları ile tedavi uygulanan gruplarda TNF- α düzeyi anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Aynı çalışmalarda tedavi uygulanan gruplarda pankreatit tablosunu yansıtan biyokimyasal ve histolojik veriler, tedavi uygulanmayan gruba göre anlamlı olarak daha iyi bulunmuştur (11, 12, 85). Akut pankreatitlerde TNF- α blokeri kullanan deneysel çalışmaların hiçbirisinde TNF- α blokeri olarak Adalimumab kullanılmadığı ve kullanılan diğer TNF- α blokerlerinde bizde olduğu gibi iki farklı dozun hiç araştırılmadığı görülmüştür. Çalışmamız TNF- α açısından değerlendirildiğinde; Cerulein ile akut ödematöz pankreatit oluşturulan kontrol grubunda ortalama $47 \pm 26,31$ düzeylerinde ölçülmüş olup, bu düzey düşük ve yüksek doz Adalimumab uygulanan gruplara ve Sham grubuna göre oldukça yüksektir. TNF- α düzeyi düşük doz Adalimumab uygulanan grupta ortalama $7,12 \pm 0,87$, yüksek doz Adalimumab uygulanan grupta $4,33 \pm 0,35$, Sham grubunda da $4,32 \pm 0,34$ olarak ölçülmüştür. Gruplar karşılaştırıldığında, tedavi uygulanmayan pankreatit kontrol grubunda TNF- α düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Adalimumab uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında düşük doz Adalimumab uygulanan grupta, yüksek doz uygulanan gruba göre anlamlı derecede yüksek TNF- α değeri bulunmuştur. Yüksek doz Adalimumab ve Sham grubu karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır, yani yüksek doz Adalimumab verilmesi ile deney

hayvanlarında TNF- α düzeyleri pankreatit olmayan hayvanlardakine eşdeğer olmaktadır. Buna göre 1 mg/kg subkutan Adalimumab uygulamasının, 0.5 mg/kg subkutan Adalimumab uygulamasından daha etkili olduğu saptanmıştır.

Nötrofil granulositlerinde MPO bulunmaktadır. Alınan örneklerde MPO saptanması bu dokudaki nötrofil artışı olduğunu gösterir. Bu da inflamasyonun bir göstergesi olarak kullanılabilir (91). Çalışmamızda MPO Lowry yöntemi kullanılarak ölçüldü (92). Pankreatit kontrol grubu ve düşük doz Adalimumab gruplarındaki MPO aktivitesi, yüksek doz Adalimumab ve Sham gruplarına göre daha yüksek düzeylerde ölçüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Etik kurul önerisi ile grupların denek hayvan sayılarının sınırlı tutulmuş olması bunun nedenlerinden birisi olabilir. Muhtemelen denek hayvan sayısı arttırıldığında aradaki bu fark anlam düzeyine erişebilecektir. Daha fazla sayıda deney hayvanı kullanılarak yapılan pankreatit ile ilgili bir diğer araştırmada bu fark anlamlı bulunmuştur (12).

Pankreatik dokuda apoptotik hücre sayısının artması, inflamasyona bağlı hasarın bir göstergesidir (93). Adalimumab ile yapılan monosit hücre kültürü çalışmalarında bu antikörün apoptozisi ve inflamasyonu azalttığı saptanmıştır (94, 95). Pankreatitte diğer TNF- α blokerleri ile (Infliximab, Etanercept, Talidomid) yapılan deneysel çalışmalarda da benzer şekilde apoptozis ve inflamasyonun azaldığı saptanmıştır (11, 12, 85). Biz de yapmış olduğumuz çalışmada Adalimumab'ın da pankreatitte apoptozisi ve inflamasyonu anlamlı derecede azalttığını saptadık. Ayrıca çalışmamızda Adalimumab'ın pankreatite bağlı oluşan pankreatik ödem ve nekrozu da anlamlı olarak azalttığı saptandı.

Çalışmamızda pankreatitteki ödem, nekroz, inflamasyon ve hemorajiyi değerlendiren histopatolojik skorlama yapıldığında, pankreatit kontrol grubuna göre diğer gruplarda istatistiksel yönden anlamlı olacak derecede skor düşük bulunmuştur. Farklı dozlarda Adalimumab uygulanan gruplar ile Sham grubu arasında skor bakımından bir fark saptanmaması ilaç uygulamasının erken dönemde yapılması ile pankreatit tablosunun daha hafif seyirli olabileceğini düşündürmektedir.

Akut pankreatitin tedavisinde hastalığın şiddetini azaltabilecek tedavi yöntemlerinin eklenmesi ile morbidite ve mortalite azaltılabilir. Biz deneysel çalışmamızda monoklonal TNF- α antikoru olan Adalimumab'ın Cerulein ile oluşturulan pankreatit gelişimini, pankreatik hasarı, TNF- α salınımını, nötrofil

infiltrasyonunu, pankreatik hücrelerde apoptozisi azalttığını yani kısacası akut ödematöz pankreatitin şiddetinin histopatolojik olarak anlamlı derecede azaldığını gösterdik. Adalimumab'ı klinik düzeyde ilaç olarak kullanabilmek için pankreatitin erken döneminde TNF- α blokerlerinin kullanımı ile hastalığın şiddeti arasındaki ilişkiyi araştıran başka çalışmalara gereksinim vardır. Ayrıca TNF- α blokerlerinin kullanımı ile pankreatit tablosunun daha hafif seyretmesi halinde hastanede kalış süresinin kısalabileceği ve bunun da tedavi maliyetinin azalmasına neden olacağı açıktır. Çalışmamız Adalimumab ile bu konuda yapılmış ilk deneysel çalışma olup, gelecekte yapılacak diğer deneysel ve klinik çalışmalar, Adalimumab'ın akut pankreatit tıbbi tedavisindeki yerini belirleyecektir.

6. KAYNAKLAR

1. Ster ML, Exocrine Pancreas: Sabiston Textbook of Surgery Townsend CM, 17th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2004;1643-1678.
2. Vogel JD, Yeo J C, Acute pancreatitis. In George D Zuidema ed. Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract. 5th ed.WB Saunders, 2002;3;9-25.
3. Yonetcı N, Sungurtekin U. Is procalcitonin a reliable marker for the diagnosis of infected pancreatic necrosis ? ANZ J Surg 2004;74:591-595.
4. Şirin F, İÜ. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Hepato-Bilier Sistem ve Pankreas Hastalıkları Sempozyum Dizisi, Pankreatit: Tanımlamalar ve Sınıflamalar. Ocak 2002;28:237-238.
5. Zyromski N, Murr MM. Evolving concepts in the pathophysiology of acute pancreatitis. Surgery 2003;133:235-237.
6. Karne S, Gorelick FS. Etiopathogenesis of acute pancreatitis. Surg Clin North Am 1999;79:699-710.
7. Denham W, Norman J. The potential role of therapeutic cytokine manipulation in acute pancreatitis. Surg Clin North Am 1999;79:767-781.
8. Lin E, Lowry SF, Calvano SE. The systemic response to injury. In Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Husser WC(eds), Principles of surgery. 7th ed. Mc Graw –Hill, USA 1999;13-21.
9. Manuel A, Manso PD, Jose I, San R. Caerulein induced acute pancreatitis in the rat. Dig Dis Sci 1992;37:364-368.
10. Soon HU, Yong DK, Chang DK, Hong SL. The role of Nitric oxide in Experimental Cerulein Induced Pancreatitis. J Korean Med Sci 2003;18:520-526.
11. Malleo G, Mazzon E, Genovese T, Di Paola R, Muià C, Crisafulli C, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. Effects of Thalidomide in a mouse model of cerulein-induced acute pancreatitis. Shock 2008 Jan;29;89-97.

12. Malleo G, Mazzon E, Genovese T, Di Paola R, Muià C, Centorrino T, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. Etanercept attenuates the development of Cerulein-induced acute pancreatitis in mice: a comparison with TNF-alpha genetic deletion. *Shock* 2007 May;27:542-51.
13. Masamune A, Shimosegawa T. Anti-cytokine therapy for severe acute pancreatitis *Nippon Rinsho*. 2004 Nov;62:2116-21.
14. Chiasson, R.B.: *Laboratory Anatomy of the White Rat*, 4th ed. 1980:55
15. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology* 11th ed. Philadelphia: Elsevier, 2006;799-802.
16. Beger HG. Natural course of acute pancreatitis. *World J Surg* 1997;21:130-135.
17. Sayek İ. Pankreatit. *Temel Cerrahi* 3.baskı Güneş Kitabevi 2004;1409-1416.
18. Fitz RH. Acute pancreatitis: a consideration of pancreatic hemorrhage hemorrhagic, suppurative and gangrenous pancreatitis. *Boston, Med Surg J* 1889;70:181.
19. Bradley EL. A clinically based classification system for acute pancreatitis: summary of the Atlanta symposium. *Arch Surg* 1993;128:586–590.
20. Triester SL, Kowdley KV. Prognostic Factors in Acute Pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2002;34:167-176.
21. Reber HA. Çeviri: Baykal A. Pankreas. Schwartz SI, Shires T, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC *Principles of Surgery* 7th ed. McGraw-Hill, Geçim İE. Cerrahinin İlkeleri. *Antıp AŞ* 1999;1489-1522.
22. Bastidas JA, Niederhuber JE. The Pancreas In John E. Niederhuber *Fundamentals of Surgery*. Appleton and Lange 1998;375-389.
23. Zeytinlu M, Çoker A. Hydatid Acute Pancreatitis. *Turk J Gastroenterol* 2004;15:229-232.
24. Meier RF, Beglinger C. Nutrition in pancreatic diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2006;20:507-29.

25. Zyromski NJ, Çeviri: Akçay N.M. Akut ve kronik pankreatit Mayo Kınığı Gastrointestinal Sistem Cerrahisi Keith AK, Micheal GS, Ronald AH, Erbil Y, Değerli Ü. Nobel Tıp Kitabevleri 2004; 321-340.
26. Ereneoğlu C, Uluutku AH. Do MRI agents cause or worsen acute pancreatitis? Ulus Travma Acil Cerrahi Derg 2007;13:78-79.
27. Gerard MD, Lawrence WW. Pancreas. Current Surgical Diagnosis and Treatment. 11th ed. McGraw-Hill, 2003;625-65.
28. Opie El: The etiology of acute hemorrhagic pancreatitis. Bull Johns Hopkins Hosp 1901;12:182-192.
29. Acosta JM, Pellegrini CA, Skinner DB. Etiology and pathogenesis of acute biliary pancreatitis. Surgery 1980;88:118.
30. Apte MV, Wilson JS. Alcohol-induced pancreatic injury. Best Practice and Researc Clinical Gastroenterology 2003;17:593-612.
31. Parimal C, Priya G. Pathophysiology of alcoholic pancreatitis: An overview. World J Gastroenterol 2006 December 14;12:7421-7427.
32. Wilson JS, Apte MV. Role of alcohol metabolism in alcoholic pancreatitis. Pancreas 2003 Nov;27:311-5.
33. Emre A. Akut Pankreatit. Kalaycı G (editör) Genel Cerrahi Cilt-2. Nobel Tıp Kitabevleri 2002:1247-1257.
34. Mitchell RMS, Byrne MF, Baillie J. Pancreatitis. Lancet 2003;361:1447- 1455.
35. Ian GS, Edwards AL, Symonds CS, Beck PL. Hypertriglyceridemia induced pancreatitis: A case based review. World J Gastroenterol 2006 Nov 28;12: 7197-7202.
36. Okura Y, Hayashi K, Shingu T, Kajiyama G, Nakashima Y, Saku K. Diagnostic evaluation of acute pancreatitis in two patients with hypertriglyceridemia. World J Gastroenterol 2004;10:3691- 3695.
37. Granger J, Remick D. Acute pancreatitis: models, markers, and mediators. Shock 2005;24:45-51.

38. Hirota M, Nozawa F, Okabe A, Shibata M, Beppu T, Shimada S, Egami H, Yamaguchi Y, Ikei S, Okajima T et al. Relationship between plasma cytokine concentration and multiple organ failure in patients with acute pancreatitis. *Pancreas* 2000;21:141-146.
39. Fomella LS, Galloway W. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *Br J Surg* 1995;82:6-13.
40. Plusczyk T, Witzel B, Menger MD, Schilling M. ETA and ETB receptor function in pancreatitis-associated microcirculatory failure, inflammation, and parenchymal injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;285:145-153.
41. Gao HK, Zhou ZG, Han FH, Chen YQ, Yan WW, He T, Wang C, Wang Z. Differences in platelet endothelial cell adhesion molecule-1 expression between peripheral circulation and pancreatic microcirculation in Cerulein-induced acute edematous pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2005;11:661-664.
42. Klöppel G. Acute pancreatitis. *Semin Diagn Pathol* 2004;21:221-226.
43. Slavin J, Ghaneh P, Sutton R, Hartley M, Rowlands P, Garvey C, Hughes M, Neoptolemos J. Management of necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2001;7:476-481.
44. Ranson JH. Diagnostik standarts for acute pancreatitis *World J Surg* 1997 Feb;21:136-142.
45. Greenberger JN, Toskes PP, Isselbacher JK. Acute and chronic pancreatitis. Fauci SA, Braunwald E, Isselbacher JK, Wilson DJ, Martin BJ, Kasper LD, Hauser LS, Longo LD (eds), *Harrison's Principles of Internal Medicine* 14th ed. McGraw-Hill, 1998;1741-1752.
46. Merkle ME, Görlich J. Imaging of acute pancreatitis: Hepatobiliary – Pancreas. *Eur Radiol* 2002;12:1979-1992.
47. Maher MM, Mueller R. Acute pancreatitis: The role of imaging and interventional radiology. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2004;27:208-225.

48. Nicholas TM, Chen KY. Pancreatic imaging current and emerging technologies. *Pancreas* 2006 Oct;33:211-220.
49. Turner MA. The role of US and CT in pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 2002 Dec;56:241-5.
50. Larvin M, McMahon MJ. APACHE-II score for assessment and monitoring of acute pancreatitis. *Lancet* 1989;2:201-205.
51. Chi DD, Drebin JA. Pancreas. *The Washington Manual of Surgery* 2th ed. Lipincott, Williams &Wilkins, 1999: 259-272.
52. Kekeç Y, Çoker A. Pankreas. Gülay H, Hacıyanlı M, Erkan N (editörler). *Temel ve Sistemik Cerrahi Güven Kitabevi* 1. baskı 2005; 1351-1416.
53. Mc Clave SA, Grene LM, Snider HL. Comparison of the safety of early enteral vs parenteral nutrition in mild acute pancreatitis. *JPEN* 1997;21:14-20.
54. Windsor AC, Kanwar S, Li AG. Compared with parenteral nutrition, enteral feeding attenuates the acute phase response and improves disease severity in acute pancreatitis. *Gut* 1998;42:431-435.
55. Pedrzolli P, Bassi C, Vesentini S, Campedelli A. A randomised multicenter clinical trial of antibiotic prophylaxis of septic complications in acute pancreatitis with İmipenem. *Surg Gynecol Obstet* 1993;176:480-483.
56. Mithöfer K, Fernandez- Del Castillo C, Ferraro MJ. Antibiotic treatment improves survival in experimental acute necrotizing pancreatitis. *Gastroenterology* 1996 Jan; 110:232-240.
57. İrving A, Gordon C. Acute pancreatitis. *Anesth Clin North Am* 1997;56:1224-1228.
58. Neoptolemos JP, Carr-Locke DL, London NJ et al: Controlled trail of urgent endoscopic retrograde cholangiopancreatography and andoscopic sphincterotomy versus consrvative treatment for acute pancreatitis due to gallstones. *Lancet* 1988;2:979-983.
59. Fan ST, Lai CS, Mok FPT et al. Early treatment of acute biliary pancreatitis by endoscopic papillotomy. *N Engl J Med* 1993;328:228-232.

60. Beckingham IJ, Bornman PC. ABC of diseases of liver, pancreas, and biliary system: acute pancreatitis. *BMJ* 2001;322:595-598.
61. Giuseppe M, Emanuela M. Etanercept Attenuates The Development Of Cerulein-Induced Acute Pancreatitis In Mice: A Comparison With Tnf-[Alpha] Genetic Deletion. *The Shock Society* May 2007;27:542-551.
62. Denham W, Fink G, Yang J, Ulrich P, Tracey K, Norman J. Small molecule inhibition of tumor necrosis factor gene processing during acute pancreatitis prevents cytokine cascade progression and attenuates pancreatitis severity. *Am Surg* 1997;63:1045-1049.
63. Grewal HP, Mohey el Din A, Gaber L, Gaber L, Kotb M, Gaber AO. Amelioration of the physiologic and biochemical changes of acute pancreatitis using an anti-TNF-alpha polyclonal antibody. *Am J Surg* 1994;67:214-218.
64. Hughes CB, Gaber LW, Mohey el-Din AB, Grewal HP, Kotb M, Mann L, Gaber AO. Inhibition of TNF alpha improves survival in an experimental model of acute pancreatitis. *Am Surg* 1996;62:8-13.
65. Browne WG, Pitchumoni CS. Pathophysiology of pulmonary complications of acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006 Nov;12:7087-7096.
66. Sandborn WJ, Hanauer SB. Antitumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease: a review of agents, pharmacology, clinical results, and safety. *Inflamm Bowel Dis* 1999;5:119-133.
67. Nauseef WM. Insights into myeloperoxidase biosynthesis from its inherited deficiency. *J Mol Med* 1998;76:661-668.
68. Schentrup A, Candidate PD. Adalimumab (HUMIRA™) Novel Human Monoclonal Antibody For The Treatment Of Rheumatoid Arthritis. *Pharma Note* 2003;18:1-8.
69. Yuan H, Jin X, Sun J, Li F. Protective Effect of MGB1 A Box on Organ Injury of Acute Pancreatitis in Mice. *Pancreas* 2008.

70. Leindler L, Morschl E, László F, Mándi Y, Takács T, Jármái K, Farkas G. Importance of cytokines, nitric oxide, and apoptosis in the pathological process of necrotizing pancreatitis in rats. *Pancreas* 2004;29:157-161.
71. Koike K, Moore EE, Moore FA, Read RA, Carl VS, Banerjee A. Gut ischemia / reperfusion produces lung injury independent of endotoxin. *Crit Care Med.* 1994 Sep;22:1438-44.
72. Bhatia M, Brady M, Shokuhi S, Christmas S, Neoptolemos JP, Slavin J. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *J Pathol* 2000;190:117-25.
73. Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg* 1998;175:76-83.
74. Norman JG, Franz MG, Fink GS, Messina J, Fabri PJ, Gower WR, et al. Decreased mortality of severe acute pancreatitis after proximal cytokine blockade. *Ann Surg* 1995;221:625-31.
75. Büchler M, Friess H, Uhl W, Beger HG. Clinical Relevance of Experimental Acute Pancreatitis. *Eur Surg Res* 1992;24 Suppl 1:85-88.
76. Senninger N. Bile-Induced Pancreatitis. *Eur Surg Res* 1992;24 Suppl 1:68-73.
77. Niederau C, Lüthen R, Niederau MC, Grendell JH, Ferrell LD. Acute Experimental Hemorrhagic-Necrotizing Pancreatitis Induced by Feeding a Choline-Deficient, Ethionine-Supplemented Diet. *Eur Surg Res* 1992;24 Suppl 1:40-54.
78. Schiller WR, Suriyapa C, Anderson MC. A review of experimental pancreatitis. *J Surg Res.* 1974 Jan;16:69-90.
79. Rattner DW. Experimental Models of Acute Pancreatitis and their Relevance to Human Disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996;219:6-9.
80. Steinberg WM, Schlesselman SE. Treatment of acute pancreatitis: Comparison of Human and Animal Studies. *Gastroenterology* 1987;93:1420-1427.
81. Pereda J, Sabater L, Aparisi L, Escobar J, Sandoval J, Vina J, Lopez-Rodas G, Sastre J. Interaction between cytokines and oxidative stress in acute pancreatitis. *Curr Med Chem.* 2006;13:2775-87.

82. Alwawi EA, Mehlis SL, Gordon KB. Treating psoriasis with Adalimumab. *Ther Clin Risk Manag* 2008 Apr;4:345-51.
83. Lovell DJ, Ruperto N, Goodman S, et al. Adalimumab with or without methotrexate in juvenile rheumatoid arthritis. *N Eng J Med* 2008 Aug 21;359:810-20.
84. Wyneski MJ, Green A, Kay M, Wyllie R, Mahajan L. Safety and Efficacy of Adalimumab in Pediatric Patients with Crohn Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008 Jul;47:19-25.
85. Oruc N, Ozutemiz AO, Yükselen V, Nart D, Celik HA, Yuce G, Batur Y. Infliximab: a new therapeutic agent in acute pancreatitis? *Pancreas* 2004 Jan;28:1-8.
86. Lankish PG, Buchard-reckert S, Lehnick D. Underestimation of acute pancreatitis: patients with only a small increase in amylase/lipase levels can also have or develop severe acute pancreatitis. *Gut* 1999;44:542-544.
87. Keim V, Teich N, Fiedler F, Hartig W, Thiele G, Mössner J. A Comparison of Lipase and Amylase in The Diagnosis of Acute Pancreatitis in Patients with Abdominal Pain. *Pancreas* 1998;16:45-49.
88. Kaya E, Dervişoğlu A, Polat C. Evaluation of diagnostic findings and scoring systems in outcome prediction in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007 Jun;13:3090-3094.
89. Taylor SL, Morgan DL, Denson KD, Lane MM, Pennington LR. A comparison of the Ranson, Glasgow and APACHE II scoring systems to a multiple organ system score in predicting patient outcome in pancreatitis. *Am J Surg* 2005;189:219-222.
90. Majer JM, Raraty M, Slavin J et al. Serum amyloid A is a better early predictor of severity than C-reactive protein in acute pancreatitis *British J Surg* 2002;89:163-171.
91. Zhao M, Xue DB, Zheng B, Zhang WH, Pan SH, Sun B. Induction of apoptosis by artemisinin relieving the severity of inflammation in caerulein-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007;13:5612-5617.

92. Kiriş İ, Okutan H, Savaş Ç, Yönden Z, Delibaş N. Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Renal Hasara Gadolinyum Klorür Etkisi. *Turkish J Vasc Surg* 2005;14:13-18.
93. Gukovskaya AS, Pandol SJ. Cell death pathways in pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreatology* 2004;4:567-586.
94. Shen C, Van Assche G, Rutgeerts P, Ceuppens JL. Caspase activation and apoptosis induction by Adalimumab, demonstration in vitro and in vivo in a chimeric mouse model. *İnflamm Bowel Dis* 2006 Jan;12:22-8.
95. Shen C, Van Assche G, Colpaert S, Maerten P, Geboes K, Rutgeerts P, Ceuppens JL. Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: a comparative study with infliximab and etanercept. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:251-258.