

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**AKUT PANKREATİT
TEDAVİSİNDE İNFLİXİMAB
KULLANIMI
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Sema TEKİN

İSTANBUL, 2006

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli desteklerini esirgemeyen ve eğitimime katkıda bulunan Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ümit Balcısoy'a, tez çalışması boyunca gösterdiği destek ve anlayış için başta tez yönetmenim Sayın Prof.Dr.Hilal Ünal olmak üzere Sayın Prof.Dr.Varol Çelik ve Sayın Prof. Dr.Berat Apaydın'a ve tüm değerli hocalarıma ve başasistanlarıma teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tezimin gerçekleşmesi sırasındaki emek ve desteklerinden dolayı, Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Ezel Uslu'ya, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof.Dr.Süha Göksel'e, Merkez Laboratuvarı şefi Sayın Prof.Dr. Münire Hacıbekiroğlu'na, Sayın Prof. Dr. Nesrin Uygun ve Dr. Halim Özçevik'e teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma sevgilerimi sunar, başarılar dilerim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|-------------------------------|----|
| GİRİŞ..... | 4 |
| GENEL BİLGİLER..... | 6 |
| GEREÇ VE YÖNTEM..... | 21 |
| BULGULAR..... | 29 |
| TARTIŞMA..... | 42 |
| ÖZET..... | 48 |
| İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)..... | 50 |
| KAYNAKLAR..... | 52 |

GİRİŞ

Akut pankreatit, karın ağrısı ile kendini gösteren serum amilaz ve lipaz seviyelerinin yükseldiği inflamatuvar bir hastalıktır(1). Pankreas dokusunda hafif interstityal ödemden ağır hemorajik gangren ve nekroza kadar değişen geniş bir patolojik spektrumu kapsar. Akut pankreatit, pankreasta normalde inaktif halde bulunan sindirim enzimlerinin herhangi bir etiyolojik faktörle aktif hale geçerek pankreas dokusunu, çevre dokuları sindirmesi ve buna bağlı yaygın sistemik komplikasyonlara yol açması ile oluşan klinik bir tablodur(2,3).

Akut pankreatit %5-10 mortalite oranına sahip sık görülen bir hastalık olmaya devam etmektedir. Olguların çoğu hafif ve kendini sınırlayan olgulardır ve iyi prognoza sahiptir. Ciddi hastalığa sahip olguların %10-20'si pankreas nekrozu ve uzak organ yetmezliği ile karakterizedir. Yoğun bakım ve muhtemel cerrahi müdahale gerektiren hastaların mortalitesi %40'a kadar çıkmaktadır(4).

Akut pankreatit, olguların çoğunluğunda sistemik inflamatuvar cevaba yol açan lokal inflamatuvar bir süreçtir(5-8). Sindirim enzimlerinin asinus içinde erken aktivasyonu hasarın patofizyolojik mekanizmasının merkezinde bulunurken asiner hücre apoptozisi, oksidatif strese artış, mikrodolaşımda bozulma ve sitokinlerin salınımı hasarın ilerlemesine ve pankreas dışı komplikasyonların gelişimine olanak sağlar(5-10). Ciddi akut pankreatit genellikle glandüler nekroz sonucu gelişir(11). Erken gen aktivasyonu ile ilişkili bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktor κ B (NF- κ B) nekroz gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır. NF- κ B aktivasyonunun gerçek mekanizması bilinmemesine rağmen, bir kez

uyarıldığında tümör nekroz faktörü(TNF- α) de içine alan çeşitli inflamatuvar sitokinlerin üretilmesine yol açar(12).

TNF- α , başlıca makrofajlardan türetilen , organizmanın yaralanma veya hastalığa karşı birçok patofizyolojik cevabının oluşmasında büyük rol oynayan bir sitokindir. Artmış TNF- α düzeyi ile ilişkilendirilen septik şokun sistemik belirtileri, ciddi akut pankreatitli hastalardaki ile yakın benzerlik göstermektedir. Bu tür komplikasyonların hepsi aşırı nötrofil aktivasyonu, artmış kapiller geçirgenlik ve direkt hücresel toksisite gibi hücresel cevaba bağlı olabilir. Bu hücresel cevaplar septik şok sendromunda gösterildiği gibi TNF- α üretimi ile ilişkilidir(13).

İnflamatuvar cevabın medyatörleri olarak IL-1 ve TNF'nin merkezi önemi açısından bakıldığında, araştırmacılar bu sitokinlerin üretiminin ve etkilerinin engellenmesini aşırı ve iyi kontrol edilememiş inflamasyon ile birliktelik gösteren çeşitli durumların tedavisinde mantıklı bir strateji olarak kabul etmektedirler.

Salgılanmış TNF'nin etkilerini nötralize etmek üzere dizayn edilmiş ajanlardan biri, bir monoklonal anti-TNF antikoru olan İnfliximab'tır (14).

Bu çalışmanın amacı, monoklonal TNF antikoru, İnfliximab'ın sıçanlarda oluşturulan şiddetli nekrotizan pankreatit modelinde, pankreatit tablosu ile oluşan oksidatif stres ve histopatolojik değişiklikler üzerine yaptığı etkiyi belirleyerek tedavi edici etkisini araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

AKUT PANKREATİT

Akut pankreatit antik çağlardan beri bilinen bir hastalıktır(4). Pankreasın ilk tanımı M.Ö.300'lerde Herophilus tarafından yapılmış ve bundan yaklaşık 400 yıl sonra, bu organ, Rufus tarafından "pankreas" olarak isimlendirilmişti. Ana Pankreas kanalı 1642 yılında Johann Wirsung ve aksesuar pankreas kanalı 1724 yılında G.D. Santorini tarafından tanımlanmıştı(2).

1886 yılında, Senn nekroz veya abse ile komplike olan akut pankreatit olgularında cerrahi debritleme tedavisini önermişti. Bundan 3 yıl sonra Fitz, akut pankreatitin klasik patolojik tanımını yapmış ve bu olgularda cerrahi müdahalelerin yapmış olduğu hasar konusunda uyarılmıştı(4,15). Halsted ve Opie, 1901 yılında safra taşına bağlı pankreatit patogenezi tanımlamışlardı(4,16,17). 1917 yılında alkol ile akut pankreatit ilişkisi bildirilmiş ve 1929 yılında serum amilaz düzeyi klinisyenler için tanısal araç olarak tanıtılmıştı.

Daha yakın zamanlarda, 1974 yılında Ranson ve ark. şiddetli hastalık geçirenlerin erken tanınmasını kolaylaştıracak prognostik skora sistemini tanıtmışlardı(4,18). Antibiyotiklerin ve endoskopik sfinkterotomi(ES) ile birlikte endoskopik retrograd kolanjiopankreatikografi (ERCP)'nin prospektif randomize çalışmaları bildirilmiş olup bugün, bu müdahalelerin kullanımına rehberlik etmektedir. 1996 yılında herediter pankreatit'e neden olan genetik defekt tanımlandı(19). Sitokin çalışmalarının artması akut pankreatit patogenezinin anlaşılmasına yeni bir boyut eklemiştir ve yeni tedavi edici girişimlerin kapısını açmıştır.

Akut pankreatit %5-10 oranında mortaliteye sahip sık görülen bir hastalık olmaya devam etmektedir. Olguların çoğu hafif ve kendini sınırlayan olgulardır ve iyi prognoza sahiptir. Şiddetli hastalığa sahip

olguların %10-20'si pankreas nekrozu ve uzak organ yetmezliği ile karakterizedir. Yoğun bakım ve muhtemel cerrahi müdahale gerektiren hastaların mortalitesi %40'a kadar çıkmaktadır. Şiddetli akut pankreatit, iki fazlı bir hastalık olarak ortaya çıkmaktadır; erken sistemik faz ve lokal pankreas komplikasyonları ile belirlenen geç faz (6). Sitokin çalışmaları, uzak organ yetmezliği ile birlikte erken sistemik inflamatuvar sendromun altında yatan mekanizmaları tanımlamaya yardımcı olmaktadır(20). Daha sonraki aşamalarda pankreasın enfeksiyonu ile ilişkili komplikasyonlar ölümün ana nedenleridir(21).

Akut pankreatitin yıllık insidansı 5-80/100000 arasında değişmektedir. Son yıllarda akut pankreatit insidansı ile ilgili yapılan birçok çalışma sayının arttığını düşündürmektedir(22). Erkek, kadın oranı 1.9/1'dir ve erkeklerde 7. dekada, bayanlarda 8. dekada pik yapar(22). Cinsiyet ile akut pankreatit riski arasında güçlü bir ilişki vardır. Alkolik pankreatit insidansı erkeklerde daha yüksekken, safra taşı pankreatiti bayanlarda daha yüksektir(22-24). Bunun yanında Almanya'da yapılan bir çalışmada alkol alım miktarı ile ilgili bir düzeltilme yapıldığında akut pankreatit riski açısından cinsiyet farkı olmadığı gösterilmiştir(25).

Akut pankreatitin en sık iki nedeni alkol ve safra taşıdır(22). ABD, Batı Avrupa ve Asya'da akut pankreatit yapan nedenlerin %70-90'ını oluşturmaktadır (26,27). Her ne kadar tüm dünyada akut pankreatit'in en sık nedeni safra taşı olsa da, alkol sanayileşmiş toplumların çoğunda ilk sırada yer almaktadır. İdiopatik durumlar, akut pankreatitin 3. en sık nedenidir ve geniş serilerde %10-40'ını oluşturur. Akut pankreatitin diğer nedenleri ; ilaçlar, sistemik hastalıklar, travma, enfeksiyon, herediter hastalık ve diğer nadir nedenlerdir (Tablo1). Yaklaşık olarak ABD nüfusunun %10'unda safra taşı bulunmaktadır. Safra taşına sahip olan nüfusun %15'i semptomatiktir(28). Akut pankreatit, semptomatik safra taşı bulunan hastaların %3-8'inde meydana gelir (29).

Tablo 1 : Akut pankreatit nedenleri

- Alkol
- Safra yolu hastalıkları
- Hiperlipidemi
- Hiperkalsemi
- Herediter
- Travma
 1. Eksternal
 2. Operatif
 3. Retrograd pankreatikografi
- İskemi
 - a. Hipotansiyon
 - b. Kardiyopulmoner bypass
 - c. Ateroembolizm
 - d. Vaskülit
- Pankreas kanal tıkanıklığı
 1. Neoplaziler
 2. Kistler
 3. Pankreas divisum
 4. Ampuller stenoz
 5. Duodenal divertikül
- Duodenal obstrüksiyon
- Enfeksiyon: viral, parazitik, bakteriyel, fungal
- İlaçlar
- İdiopatik

PATOGENEZ

Akut pankreatit, sistemik inflamatuvar yanıt ve multisistem organ yetmezliğine kadar ilerleyen steril inflamasyon örneğini temsil etmektedir. Bu bağlamda benzersizdir, çünkü bakteriyel ürünler inflamatuvar yanıtı başlatmaz ve sürüklemeyiz. Akut pankreatit klinik bir hastalık olmasının yanında, inflamatuvar yanıtın hastalığın sonucunu nasıl belirlediği konusunda araştırma için önemli bir modeli temsil edebilir. Tetikleyici faktör dikkate alınmaksızın, organ yaralanması ve ölüm ile sonuçlanan ortak inflamatuvar bir yol olması muhtemeldir.

Kendini sınırlayan bir hastalık olmasına rağmen olguların %10-20' sinde şiddetli pankreatit gelişmektedir. Mortalite oranı, şiddetli pankreatit olgularında multiorgan yetmezliğine ilerlediğinde 30% civarındadır. Tedavi seçeneklerini bulup ortaya koymamız için hastalığın gelişmesini ve ilerlemesini sağlayan temel mekanizmaları anlamamız gerekiyor. Akut pankreatitin patogenezi, özellikle hayvan modellerinden alınan sonuçların insan çalışmalarında altyapı olarak kullanıldığını düşünürsek, nitelendirilmesi zor olan lokal ve sistemik immun yanıtların karşılıklı etkileşimini içerir. Deneysel çalışmalar, akut pankreatitin prognozunu, pankreas nekrozunun derecesi ve sistemik inflamatuvar cevap tarafından oluşturulan multipl organ yetmezliğinin şiddetine bağlı olduğunu ileri sürmektedir. Ayrıca, bir yandan sınırlı doku hasarı ile proinflamatuvar sitokin üretimi, diğer yandan dolaşıma proinflamatuvar ajanlarının geçişini sınırlayan sistemik antiinflamatuvar yanıt arasında karışık bir dengenin var olduğunu belirtmektedir. Proinflamatuvar sitokinler; IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAF(platelet activating factor) bu etkileşimin önemli faktörlerindendir. Ayrıca, IL-10, TNF -çözünür reseptörleri ve IL- 1 reseptör antagonisti akut pankreatitin sistemik inflamatuvar yanıtına katılan anti-inflamatuvar sitokinlerindendir. Deneysel modellerde hastalığın patogenezinde rol alan diğer faktörler; bradikinin, nitrik oksit, reaktif oksijen ara ürünleri, substans P ve yüksek poliaminleri içerir. Bu mediatörlerin birkaçının akut şiddetli

pankreatiti olan hastaların plazmasında yüksek konsantrasyonda bulunduğu belgelenmiştir. Preklinik çalışmalarda görüldü ki bu medyatörlerin bir kısmı hastalığın aktivite göstergesidir, diğer inflamatuvar komponentler hastalığın sürecini sürükleyen önemli medyatörler olarak değerlendirilebilir (30).

Medyatörlerin, bu sürece karışması gösteriyor ki uygunsuz immun yanıtın azalmasını sağlamak, sonucu iyiye doğru düzeltmek için potansiyel bir faktördür. Hayvan modellerinde spesifik medyatörlerin manipulasyonları umut verici olmasına rağmen bunları insanlarda klinik uygulamalara yansıtamayabiliriz. Buna rağmen, akut pankreatitin deneysel hayvan modellerine devam eden ilgi ve güven, hastalığın altta yatan sebeplerini açığa kavuşturmak için önemli olabilir.

Bu temel mekanizmaları tam anlamak için sadece medyatörleri tayin etmek yeterli değil, ek olarak medyatörlerin görünme hızını belgelemek gerekir. İnflamatuvar yanıtın ölçümü, akut pankreatitin tanısal göstergelerinin belirlenmesinde yardımcı olabilir ve prognoz için bir ipucu verebilir. Modelleri anlamak, göstergeleri belgelemek ve medyatörlerin şifresini çözmek akut pankreatitin tedavisini geliştirmek için potansiyel faktörlerdir(30).

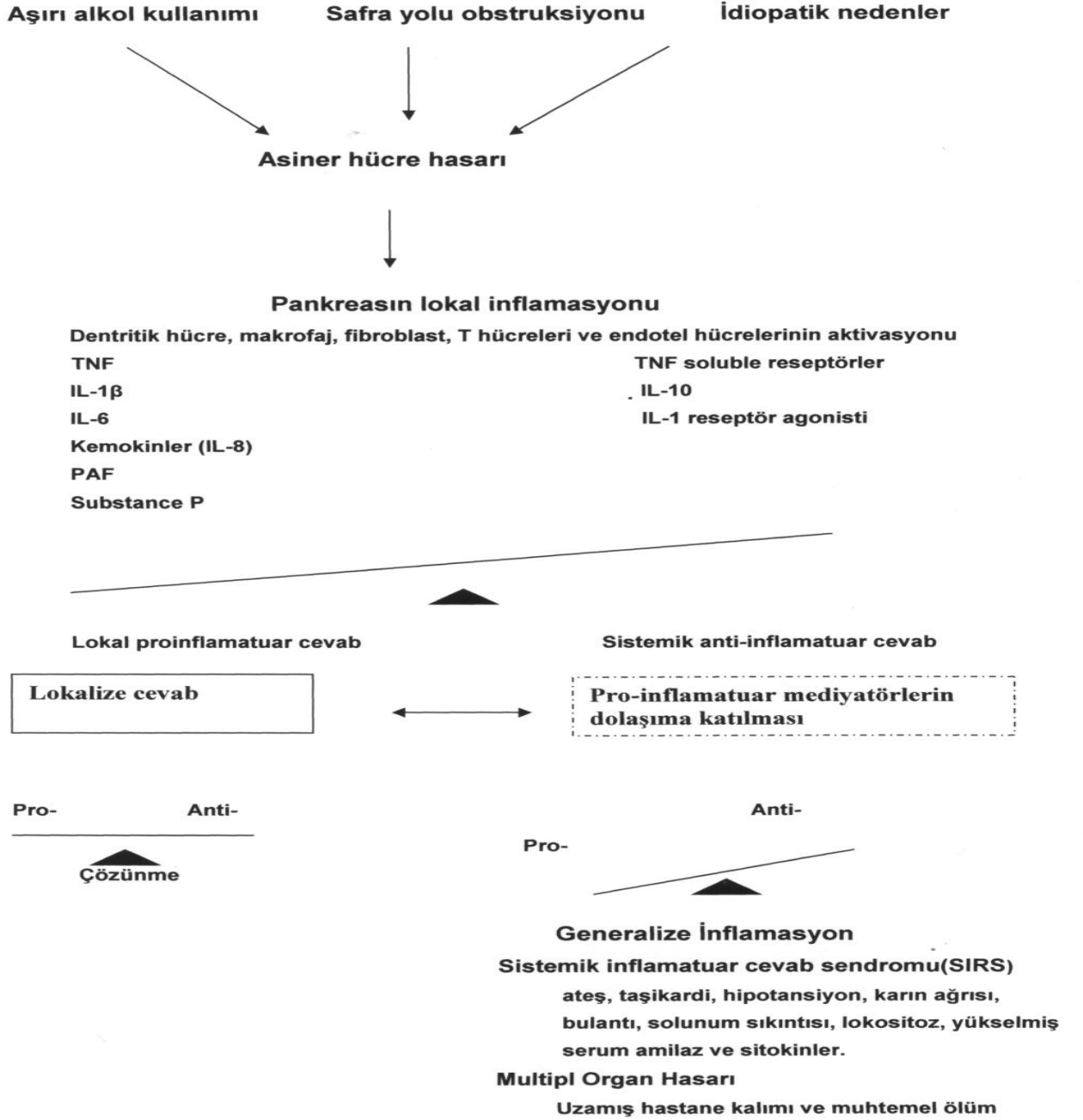
Akut pankreatit için önerilmiş bir model de şekil 1'de gösterilen birçok basamağı içerir(31). Birinci basamakta asiner hücre hasarı bulunur. Model asiner hücre hasarı için başlatıcı faktörden bağımsızdır. Aşırı alkol kullanımı, safra yolu tıkanıklığı veya diğer faktörlere sekonder gelişir(31). Pankreas hasarı proinflamatuvar faktörlerin salınması ile kontrol edilen lokal inflamatuvar cevaba neden olur (32). Sitokinlerin pankreatit patogenezinde kritik bir rol oynadığı görülmektedir(7). Gerçekte etiyolojik faktör ne olursa olsun, serum proinflamatuvar sitokin düzeyleri insanlarda (33,34) ve deneysel modellerde(35-37) artar. Bu durum sadece pankreas hasarını artırmakla kalmaz, ardından gelen sistemik inflamatuvar cevaba da katkıda bulunur(32,38). Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar medyatörler arasındaki hassas denge inflamatuvar cevabın gidişatına karar verir(31).

Bu bilgiye dayanarak akut pankreatit şiddetini azaltmak amacıyla çeşitli tedaviler denenmiştir. TNF- α ve IL-8'e karşı kullanılan antikörlerin (13,39,40), akut pankreatit gidişatını sınırladığını göstermiştir. Proinflamatuvar sitokin üretimini inhibe ettiği bilinen güçlü bir anti-inflamatuvar olan IL-10 uygulanmasının kolinden fakir diyet (41) ve serulein ile (42,43) pankreatit oluşturulmuş modellerde pankreatit tablosunu hafiflettiği gösterilmiştir. Ancak bu sonuç klinik çalışmalarda alınamamıştır(44). Asiner hücre hasarı, dentritik hücreler, makrofajlar, T hücreleri ve endotel hücrelerini içeren immün sistemin lokal aktivasyonu ile sonuçlanır. Bazı hastalar bu fazda durur ve pankreatit ve lokal inflamasyon çözülür. Ancak bazı talihsiz hastalar için hastalık sistemik hastalık haline gelebilir. Kontrol edilmemiş lokal inflamasyon sistemik inflamatuvar cevab sendromuna (SIRS) yol açar. Bu hastalar multipl organ yetmezliği, uzamış hastane kalım süresi ve ölüm açısından yüksek risklidir(31).

Her ne kadar pankreası infiltre eden lökositlerin geleneksel olarak akut pankreatitte inflamatuvar medyatörlerin kaynağı olduğuna inanılsa da (45), son zamanlarda elde edilen çok sayıdaki kanıt, reaktif oksijen radikallerinin kısmen sinyal transdüksiyon yolu ile sitokin üretimine neden olduğu(46-48) ve bu yolla aktive olmuş asiner hücrelerin lökosit infiltrasyonu(49-51) için ilk sinyali oluşturduğunu desteklemektedir(52). Serulein(50,53) ve duktus obstrüksiyonu(48) ile oluşturulan akut pankreatitte asiner hücrelerde artmış TNF- α , IL-6 ve IL-1B düzeyleri bulunmuştur. Ayrıca serulein (54) ve duktus obstrüksiyonu(55) ile oluşturulmuş akut pankreatit modelinde, pankreas dokusunda IL-10 mRNA up regülasyonu gösterilmiştir. Ancak bu antiinflamatuvar olaya asiner hücrenin spesifik katkısı hala bilinmemektedir(52).

Potansiyel son ortak yol mediyatörleri olarak multipl organ yetmezliğini başlatan bir çok inflamatuvar molekül tanımlanmıştır. Bunlar; TNF, interlökin-1 β (IL-1 β)□ □ □ , H β ve IL-8 gibi kemokinleri içeren sayısız sitokinler arasındadır(12,31).

Şekil. 1



İNFLAMATUAR CEVAP MEDYATÖRÜ OLARAK SİTOKİNLERİN ROLÜ

İnflamasyon temel olarak hayatın yüksek formlarına izin vermek için kendilerini zararlı ajanlardan kurtarmak, nekrotik hücreleri ve debrisini uzaklaştırmak ve hasarlanmış doku ve organları onarmak amacıyla gelişen koruyucu bir cevaptır.

Ancak, inflamatuvar cevabın bir parçası olarak mikro organizmaları öldürmek ve/veya canlılığını yitirmiş hücreleri yıkmak ve sindirmek için kullanılan mekanizmalar normal dokulara da zarar verici olabilir. Bu nedenle inflamasyon bir çok hastalığın ve sendromun altında yatan patojenik mekanizmadır. İnflamatuvar cevabın başlaması, idamesi ve sonlanması sayısız farklı hücre tipleri ve yüzlerce farklı hümmoral mediyatörü içeren son derece kompleks bir süreçtir. Hümmoral immün mediyatörlerin en önemli sınıflarından birini sitokinler olarak adlandırılan geniş bir grup proteinler oluşturur. Sitokinler, endokrin, parakrin ve otokrin işlemlerdeki hedef hücrenin fonksiyonunu değiştirmek amacıyla salınan küçük protein veya glikoproteinlerdir. İnsülin veya tiroksin gibi klasik hormonların aksine sitokinler özelleşmiş bezler tarafından salınmaz fakat bunun yerine tek başına hareket eden (ör: lenfosit veya makrofaj) veya bir dokunun parçası olarak hareket eden (intestinal epitel gibi) hücreler tarafından üretilir.

Gereğinden fazla bulunma sitokinlerin diğer karakteristik özelliğidir. Birçok farklı sitokin çok benzer etki gösterebilir.

Sitokinler yapılarına göre iki gruba ayrılır.

1. Tip I sitokinler karakteristik tersiyer yapıya sahip 4- α heliks demetinden oluşan geniş bir grup proteindir. Tip I sitokinlerin reseptörleri de yapısal olarak benzerlikler taşır ve "Tip I sitokin reseptörleri" olarak adlandırılır.

Tip I sitokinler aşağıdaki proteinleri içerir:

İnterlökin 2 (IL-2), IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-13, IL-15, granülosit koloni stimülan faktör (G-CSF).

2. Tip II sitokinler, İnterferon(IFN)- α , IFN- β , IFN- γ ve IL-10'u içeren yapısal olarak benzerlik gösteren proteinlerdir. Tip II sitokin reseptörleri de yapısal olarak benzerlik gösterir.

Sitokinleri gruplandırmanın bir diğer yolu da basit CD4⁺ T hücrelerinin (Th 0 hücreleri), Th 1 ve Th 2 olarak adlandırılan 2 alt T helper (Th) hücre grubuna farklılaşmasının tanınmasına dayanır. Th 1 hücreleri, intrasellüler patojenlerin yok edilmesi, makrofaj aktivasyonunun artırılması ve opsonizan antikorların üretimi için gerekli olan hücre sel immün cevaptan sorumludur. Th 2 hücreleri atopi ve alerjik inflamasyonun patogenezinde yer alır ve B lenfosit büyüme ve farklılaşmasını artırır. Th 1 hücreleri potent proinflamatuvar sitokinler olan IFN- γ ve lenfotoksin(LT)- α ile IL-2 üretir. Th 2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13'ü üretir(14).

IL-4, IL-10, IL-13 ve kısmen IL-6 antiinflamatuvar yapıdadır. Bu nedenle Th 1 sitokinler sıklıkla proinflamatuvar, buna karşılık Th 2 sitokinler antiinflamatuvar olarak kabul edilir. Fagositik hücreler tarafından üretilen IL-12, Th 1 hücrelerinin farklılaşması için gereklidir(56).

Sitokinlerin özel bir ailesi olan kemokinler 8-11 kilo dalton moleküler ağırlığa sahip küçük proteinlerdir. Primer biyolojik etkileri lökosit ve fibroblastlar için kimyasal uyarıcı olarak hareket etmeleridir.

Diğer sitokin alt grubu hematopetik kök hücrelerinin büyümesi ve/veya farklılaşmasını sağlayan koloni-stimülan faktörlerdir. Diğer büyüme ve farklılaşma faktörleri platelet büyüme faktörleri, epidermal büyüme faktörü(EGF), keratinosit büyüme faktörü(KGF) dür.

TNF- α (Tumor nekroz faktör- α)

IL-1 ve TNF yapısal olarak benzer olmayan pluripotent sitokinlerdir. Her ne kadar bu maddeler farklı hücrel reseptörlere bağlansa da bir çok biyolojik aktiviteleri örtüşür.

Tablo 2'de, rekombinant IL-1 ve TNF- α verilmiş olan insanlarda ortaya çıkan biyolojik etkiler belirtilmektedir. T helper hücrelerinin aktivasyonunu artırma yetenekleri nedeniyle, neredeyse tüm humoral ve hücrel immün cevapları artırabilir. Nötrofil ve makrofaj aktive etme ve diğer bazı sitokinleri ve inflamatuvar medyatörlerin tanımlanmasını başlatma yeteneğine sahiptir. IL-1 ve TNF- α 'nın biyolojik etkilerinin çoğu diğer sitokinlerin varlığı ile artırılır.

TNF ilk olarak lipopolisakkarit (LPS) verilmiş hayvanlardan elde edilmiş ve tümör hücrelerini in vitro olarak öldürebildiği ve fareye nakledilen tümörlerde nekroza neden olduğu saptanmıştır(14,57). Proteinin genetik kodu kısa bir süre sonra klonlanmıştır(58). Aynı zamanlarda LPS ile uyarılmış makrofaj çökeltilerinden elde edilen diğer bir protein kaşektin olarak adlandırılmış ve yağ hücrelerinde lipoprotein lipaz ve diğer anabolik hormonların tanımlanmasını baskıladığı saptanmıştır(59,60). Daha sonra TNF ve kaşektinin aynı protein olduğu gösterildi(61). TNF, hayvanlarda endotoksik şokun merkezi medyatörü olarak tanımlandı. TNF, TNF- α olarak isimlendirilir. Çünkü TNF- β olarak isimlendirilen bir sitokine yapısal olarak benzer. Ancak TNF- β günümüzde lenfotoksin- α olarak adlandırılmaktadır(LT- α).

Her ne kadar monosit/ makrofaj serisi TNF'nin başlıca kaynağı olsa da mast hücreleri, keratinositler, B ve T hücrelerini içeren diğer hücre tipleri de sitokin salgılama yeteneğine sahiptir. LT- α , lenfosit ve natural killer (NK) hücreler tarafından üretilir. TNF, 26 kD ağırlığında N-terminal hidrofobik bölgeye bağlanan hücre zarı ilişkili molekül olarak sentez edilir. TNF'nin membrana bağlı formu biyolojik aktiviteye sahiptir. TNF'nin

membrana bağlı formu proteinlerin matrix metalloproteinaz ailesinin bir üyesi olan spesifik TNF-dönüştürücü enzim tarafından 17 kD ağırlığında çözüdür forma dönüştürülür. TNF'nin çözüdür formu TNF reseptörlerine bağlanmak ve aktive olmak için önemli bir özellik olan homotrimer yapısında bulunur.

Tablo 2. Rekombinant IL-1 ve TNF- α verilmiş olan insanlarda ortaya çıkan biyolojik etkiler

| ETKİ | IL-1 | TNF- α |
|------------------------------------|------|---------------|
| Ateş | + | + |
| Baş ağrısı | + | + |
| Anoreksi | + | + |
| Artmış plazma ACTH seviyesi | + | + |
| Hiperkortizolemi | + | + |
| ↑ Plazma nitrit/nitrat seviyesi | + | + |
| Sistemik arteryel hipotansiyon | + | + |
| Nötrofil | + | + |
| Geçici nötropeni | + | + |
| ↑ Plazma APR proteinleri | + | + |
| Demir düşüklüğü | + | + |
| Çinko düşüklüğü | - | + |
| ↑ Plazma IL-1 RA seviyesi | + | + |
| ↑ Plazma TNF-R1 ve TNF-R2 seviyesi | + | + |
| ↑ IL-6 plazma seviyesi | + | + |
| ↑ IL-8 plazma seviyesi | + | + |
| Koagulasyon kaskatının aktivasyonu | - | + |
| Artmış trombositoz | + | - |
| Pulmoner ödem | - | + |
| Hepatoselüler yaralanma | - | + |

TNF- α ve LT- α her ikisi de iki farklı reseptöre bağlanabilme yeteneğine sahiptir; TNF-R1 (p55) ve TNF-R2(p75). Bu reseptörler 2 benzer alt birimden oluşan transmembran proteinlerdir. TNF-R1 ve TNF-R2'nin ekstraselüler kısımları benzerdir ve TNF'e benzer afinite gösterir. Fakat reseptörlerin sitoplazmik bölgeleri farklıdır. Bundan yola çıkarak, TNF-R1 ve TNF-R2'nin farklı yollar aracılığı ile sinyal ilettiği düşünülür. Her iki reseptör de eritrositler dışında bir çok hücrede bulunur. TNF-R1 yoluyla sinyal iletimi TNF'nin proinflamatuvar etkisinden sorumlu majör mekanizmadır. TNF-R2, TNF'nin TNF-R1'e bağlanmasını artırıcı etki gösterebilir(62); veya alternatif olarak TNF-aracılı inflamatuvar cevabı baskılamak için zıt etkili düzenleyici olarak rol alabilir(63).

TNF'nin kendisi TNF ligand ailesinin diğer üyelerinden farklıdır. Çünkü hem apoptozisin güçlü bir başlatıcısıdır, hem de güçlü bir proinflamatuvar medyatördür. TNF'nin bu iki etkisi büyük olasılıkla sepsis ve septik şokun patogenezinde önemlidir. Çözünür TNF-R1 ve TNF-R2'nin her ikisi de normal olguların dolaşımında düşük konsantrasyonlarda bulunur(64). Sepsis ve septik şok durumlarında TNF-R1 ve R2'nin her ikisi de dolaşımda belirgin olarak artar. Üstelik yüksek konsantrasyonlar kötü prognozun habercisidir(65-67). Büyük miktarlarda bulunduğu sTNF (soluble,çözünür TNF) reseptörleri TNF'nin biyolojik etkisini inhibe edebilir. Ancak daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu sTNF reseptörleri sitokini stabilize edebilir ve potansiyel olarak bazı etkilerini artırabilir. İnflamatuvar cevabın medyatörleri olarak IL-1 ve TNF'nin merkezi önemi açısından bakıldığında, araştırmacılar bu sitokinlerin üretimi ve etkilerinin engellenmesini aşırı ve iyi kontrol edilememiş inflamasyon ile birliktelik gösteren çeşitli durumların tedavisinde mantıklı bir strateji olarak kabul etmektedirler.

Salgılanmış TNF'nin etkilerini nötralize etmek üzere dizayn edilmiş ajanlardan biri, bir monoklonal anti-TNF antikoru olan İnfliximab'tır. U.S. Food and Drug Administration tarafından Crohn hastalığına sekonder enterik fistüllerin tedavisinde kabul edilmiştir. Bu nedenle, septik şok

problemi anlaşılması güç bir hedef olarak kalmaya devam etse de, inflamatuvar durumların spesifik, sitokine yönelik yaklaşımlar ile tedavisi dahiliye ve cerrahinin klinik uygulamalarında önemli bir rol alacak gibi görünmektedir(14).

İNFLİXİMAB

İnfliximab, TNF- α 'nın suda çözünen transmembran formuna yüksek afinite ile bağlanarak TNF- α 'nın biyolojik aktivitesini bloke eder ve TNF- α 'nın reseptörleri ile bağlanmasını inhibe eder(68-70). İnfliximab, TNF- α ile aynı reseptörleri kullanan ilişkili sitokin lenfotoksin- α 'ı nötralize etmez. TNF- α 'ya atfedilen biyolojik aktiviteler; IL-1 ve 6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin indüksiyonu, endotel tabaka geçirgenliğini artırarak lökosit migrasyonunu artırması ve endotel hücre ve lökositler tarafından adhezyon moleküllerinin tanımlanması, nötrofil ve eozinofil fonksiyonel aktivitenin aktivasyonu, sinoviyosit ve/veya kondrositler tarafından üretilen doku yıkıcı enzimlerin yanında, akut faz reaktanları ve diğer karaciğer proteinlerinin indüksiyonunu içerir. İnfliximab'a bağlanmış transmembran TNF- α tanımlayan hücreler in vitro (70) veya in vivo (71) olarak parçalanabilir. İnfliximab, insan fibroblastları, endotel hücreleri, nötrofiller, B ve T lenfositler ve epitel hücrelerini kullanan in vitro bioassayların geniş bir çeşitliliğinde TNF- α 'nın fonksiyonel aktivitesini inhibe eder. Anti TNF- α antikoru Cotton-top tamarin kolit modelinde hastalık aktivitelerini azaltır ve kollajen indükleyici artrit murine modelinde sinovit ve eklem erozyonlarını azaltır. İnfliximab, insan TNF- α 'nın elementer tanımlanması sonucu poliartrit gelişen transgenik farelerde hastalığı engeller ve hastalığın başlangıcından sonra verildiğinde aşınmış eklemlerin iyileşmesini sağlar.

Remicade[®] yaklaşık moleküler ağırlığı 149000 dalton olan bir kimerik IgG₁ monoklonal antikordur. Sabit insan ve değişken mürin alanlarından oluşur. İnfliximab insan TNF- α 'a 10^{10} M^{-1} birlik katsayısı ile spesifik olarak bağlanır.

İnfliximab, devamlı perfüzyon ile üretilmiş rekombinant hücre serisi tarafından üretilir ve virüslerin inaktivasyonu ve arındırılmasını içeren bir seri basamak ile saflaştırılır. İntravenöz uygulanır.

İnfliximab günümüzde romatoid artrit, Crohn hastalığı, ankilozan spondilit, psoriatik artrit tedavisinde kullanılmaktadır. Kalp yetmezliği ve murin proteinlere karşı hipersensitivite durumlarında kullanılması önerilmez. İnfliximab uygulanan hastalarda sepsis ve pnömونيye de içeren ciddi enfeksiyonlar rapor edilmiştir. Bu nedenle klinik olarak aktif enfeksiyonu olan hastalarda kullanımı kontraendikedir(68).

TNF merkezli patofizyolojisi nedeniyle İnfliximabın akut pankreatit tedavisinde kullanımı henüz deneysel çalışma düzeyindedir.

DENEYSEL PANKREATİT MODELLERİ

Çok sayıda deneysel akut pankreatit modeli vardır.

a. Kapalı Duodenal Lup Yöntemi:

Pankreatik kanalın bağırsağa açıldığı yerin çevresinde kapalı duodenal lup oluşturarak, aktif pankreas enzimleri içeren duodenal salgının pankreatik kanal yoluyla pankreas içine reflüsü sonucunda pankreatit oluşturulmaktadır.

b. Diyetle Oluşturan Akut Pankreatit:

Farelere etiyoninle zenginleştirilmiş diyet ve kolinden fakir diyet verilmesi akut pankreatite yol açmaktadır. Her ikisi de hücre düzeyinde fosfolipid metabolizması üzerine inhibitör etki yapar.

c. Sekresyonun Artırılması:

Serülein, infüzyon yoluyla subkutan veya intraperitoneal olarak verilebilir. Düşük dozlarda pankreas salgısını arttırmakla birlikte yüksek dozlarda pankreatik protein sekresyonunu arttırarak ödematöz pankreatite yol açmaktadır.

d. Duktus Obstrüksiyonu:

Biliopankreatik kanalın duodenuma girdiği yerden bağlanması, safra reflüsü meydana getirerek ya da pankreas kanal içi basıncını arttırarak akut pankreatite yol açmaktadır.

Bu model, basit olmasıyla, sistemik etkileri olabilecek ilaç kullanılmasıyla, doğal olarak oluşan akut biliyer pankreatite teorik olarak paralellik göstermesiyle avantajlıdır. Bu yöntemle pankreatik ödem işlemin başlangıcından itibaren 6. saatte ortaya çıkmakta ve 12. saatten sonra maksimuma ulaşmaktadır. Bu saatlerde yağ nekrozu ve parenkimal kanama alanları belirlemektedir. Mikroskopik değişiklikler 3. saatten sonra görölmektedir.

e. Retrograd İnfüzyon Modeli:

Safra kanalına, safra tuzları, tripsin, sodyum taurokolat, safrayla beraber tripsin gibi maddeler verilerek pankreatit oluşturulur. Kanal içersine serum fizyolojik injeksiyonu dahi pankreasdaki makroskopik ve mikroskopik değişikliklere yol açmaktadır.

f. Duktal Perfüzyon Modeli:

Bu model kediler üzerinde uygulanmaktadır. Pankreas kanalı geçirgenliğinin arttırılması esasına dayanmaktadır. Pankreatik kanal bariyeri enfekte safra, aspirin, HCl ve etanol ile yıkılabilir. Pankreas kanalı kanüle edilerek bu maddelerle perfüzyon yapılır.

g. Arteriyel Obstrüksiyon (İskemi):

Pankreas damarlarının bağlanması akut pankreatite yol açmaktadır.

h. İmmun modeller:

Pankreas asinüs hücrelerine karşı antikor hazırlanıp hayvana verilerek akut pankreatit oluşturulur(72-74).

GEREÇ VE YÖNTEM

Tüm çalışma, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Komitesinin onayı ile yürütülmüştür.

Randomize kontrollü deneysel çalışmada, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarından alınan, yaklaşık 250 gr (240-310gr) ağırlığında, toplam 40 Wistar albino erkek sıçan kullanılmıştır. Denekler, deney öncesinde iki haftalık adaptasyon süresi boyunca, Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Kullanımı Kılavuzu rehber edinilerek (75), standart diet ve su ile ad libitum olarak beslendi. Sıçanlar sabit oda sıcaklığında ve 12'şer saatlik gece-gündüz siklusu altında tutuldu.

İnfliximab Uygulanması

İnfliximab steril distile su içinde çözüldü ve salin solüsyonu ile seyreltildi. 8mg/kg dozunda İnfliximab sıçanın kuyruk veninden infüze edildi (Resim 1).

Sıçanlar 10mg/kg dozunda intramusküler xylazine enjeksiyonu ve 50 mg/kg dozunda intraperitoneal ketamin enjeksiyonu ile uyutuldu. Şiddetli nekrotizan pankreatit, %3'lük taurokolat'ın intraduktal infüzyonu ile oluşturuldu. Steril koşullar altında bilateral subkostal insizyon ile laparotomi yapıldı. Koledok ortaya konularak distalinden 2/0 ipek ile askıya alındı (Resim 2). Steril %3'lük sodyum taurokolat 0.1ml/100gr dozunda, insulin enjektörüne çekilerek pankreatikobiliyer kanala yavaş yavaş infüze edildi. Taurokolat infüzyonu bittikten sonra iğne ve ipek askı açıldı.

Deney grupları aşağıdaki gibi oluşturuldu:

Grup I(n: 8): 8mg/kg dozundan İnfliximab 20 dakika boyunca infüze edildi. Ardından % 3'lük taurokolat'ın intraduktal infüzyonu ile akut pankreatit oluşturuldu. Sıçanlar taurokolat infüzyonundan 8 saat sonra sakrifiye edildi.

Grup II (n:8): Yukarıda belirtildiği gibi 20 dakika boyunca salin infüzyonu yapıldı ve %3'lük taurokolat 'ın intraduktal enjeksiyonu ile pankreatit oluşturuldu.

Grup III (n:8): Kuyruk veninden 8 mg/kg dozunda İnfliximab infüzyonu yapıldı ve intraduktal olarak 0.1ml/100gr salin verildi.

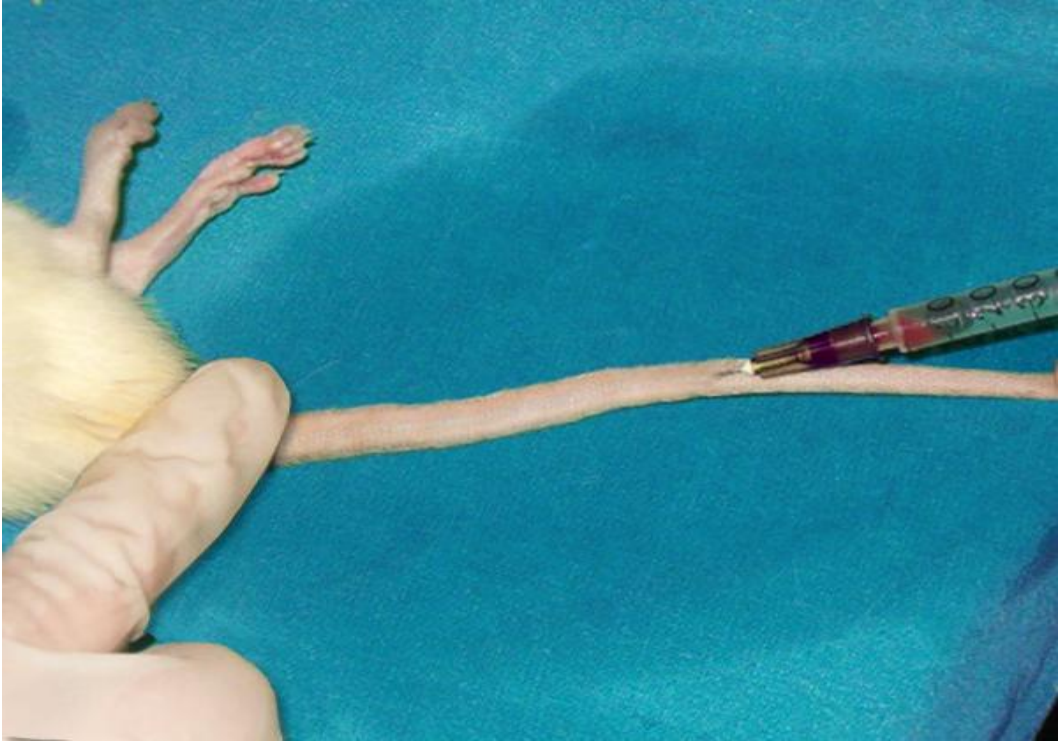
Grup IV (n: 8): Kontrol grubu olarak sıçanlara intraduktal 0.1 ml/100gr salin verildi ve kuyruk veninden 2 ml saline infüzyonu yapıldı.

Grup V (n:8): Sıçanlara sham laparotomi uygulandı.

Sıçanlara postop dönemde subkutan 1 ml/ 100gr salin infüzyonu ile sıvı replasmanı yapıldı. Sıçanlar taurokolat ve salin infüzyonundan 8 saat sonra sakrifiye edildi. Torakotomi sonrası intrakardiyak ponksiyon ile kan örnekleri alındı. Sıçanlara relaparotomi uygulanarak pankreas hızlıca alındı(Resim 3,4).

Dokuların yarısı %10'luk formol içeren kaplar içine konularak histopatolojik inceleme için patoloji laboratuvarına gönderildi. Diğer yarısı ise -70°C sıcaklığındaki derin dondurucuya konuldu.

Resim 1.



Resim 2.



Resim 3.



Resim 4.



I. Biyokimyasal değerlendirme

Alınan kan örneklerinde amilaz aktivitesi İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fikret Biyal Merkez Laboratuvarında bekletilmeden çalışıldı. Kan örnekleri 2500rpm hızında 5 dk boyunca sentrifüj edildi. Serum amilaz aktivitesi ölçüldü ve sonuçlar U/L biriminden serum amilaz aktivitesi olarak belirtildi. Kalan serum örnekleri Biyokimya Anabilim Dalı'nda antioksidan aktivite açısından incelenmek üzere -70 °C sıcaklığındaki dolaplarda saklandı.

Malondialdehid (MDA) Ölçümü:

Lipid peroksidasyonunu gösteren MDA, Buege ve Aust(76) tarafından tanımlanan modifiye tiobarbitürik asit metodu ile belirlendi. 0.5ml serum, 1 ml %15'lik tiokloroasetik asit , % 0.375 tiobarbitürik asit ve 0.25N hidroklorik asit içeren reaksiyon karışımına eklendi. Karışım, kaynayan suda 15 dakika bekletildi ve 3000rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Ayrılan presipitat alınarak spektrofotometrede 535 nm'de okundu. MDA konsantrasyonu söndürme katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı ve μM cinsinden belirtildi.

Sialik asit ölçümü:

Serum sialik asid düzeyi Warren tiobarbitürik asit testi kullanılarak ölçüldü. 0.1ml serum 80°C 'de 0.9 ml 0.1N sülfürik asit içinde 1 saat bekletildi. Elde edilen 0.2 ml çözeltiye 0.1 ml periyodat solüsyonu (9M fosforik asit içinde 0.2M) eklendi. Tüp oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. 1 ml arsenik solüsyonu eklendi .3 ml tiobarbitürik asid solüsyonu (0.5M sodyum sülfat içinde %0.6)eklenip kaynayan suda 15 dakika ısıtıldı. Solüsyonun üzerinden 1 ml alınıp 1 ml sikloheksanon'a transfer edildi. Abzorbans 549nm'de ölçüldü ve mg/dl cinsinden belirtildi(77).

Protein Karbonilasyonu ölçümü(Karbonil Kontent):

Levine'nin metodu ile yapıldı. Serum proteinleri %10'luk triklor asetik asit (TCA) ile çöktürüldü. Çökelti 10mmol/l 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile 30 dakika inkübe edildi. Santrifüj edildikten sonra %10'luk TCA ile proteinler tekrar çöktürüldü. Çökelti 3 kez etanol/etil asetat ile yıkanarak serbest DNPH ve lipid kontaminasyonlar uzaklaştırıldı. Elde edilen çökelti SDS/EDTA 'nın fosfat tampondaki çözeltisinde çözüldü. Renkli çözeltinin optik dansitesi 370nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Molar extinksiyon sabiti 21×10^3 l/mol cm kullanılarak serum proteinlerinin karbonilasyonu nmol/mg protein olarak hesaplandı. (78)

Protein Tayini

Lowry metodu ile yapıldı (79). Sonuçlar karbonil kontent hesaplanması için kullanıldı.

Antioksidan Aktivitesi Tayini (Total Antioksidan Aktivite, TAA)

Fe-EDTA standart çözeltisi Fenton tipi reaksiyonla hidrojen peroksitle reaksiyona girer ve hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) oluşur. Bu reaktif oksijen partikülü benzoatı parçalar ve TBARS ortaya çıkar. Bilinmeyen numune içerisindeki antioksidanlar TBARS oluşumunu suprese eder. 532 nm'de spektrofotometrik olarak tesbit edilen renk oluşumu inhibisyonu antioksidan aktivite olarak ifade edilir(80).

Doku çalışmasında da aynı yöntemler kullanılmıştır. Ancak dokular bu işlemler öncesi pH:7.4 olan fosfat tamponda homojenize edildi. Santrifüj sonrası parçalanamayan kısımlar ayrıldıktan sonra homojenat serumda uygulanan metod ile çalışıldı. Dokuda elde edilen sonuçlar mg protein üzerinden oranlanarak hesaplanmıştır. Protein tayini için Lowry protein metodu kullanıldı(79).

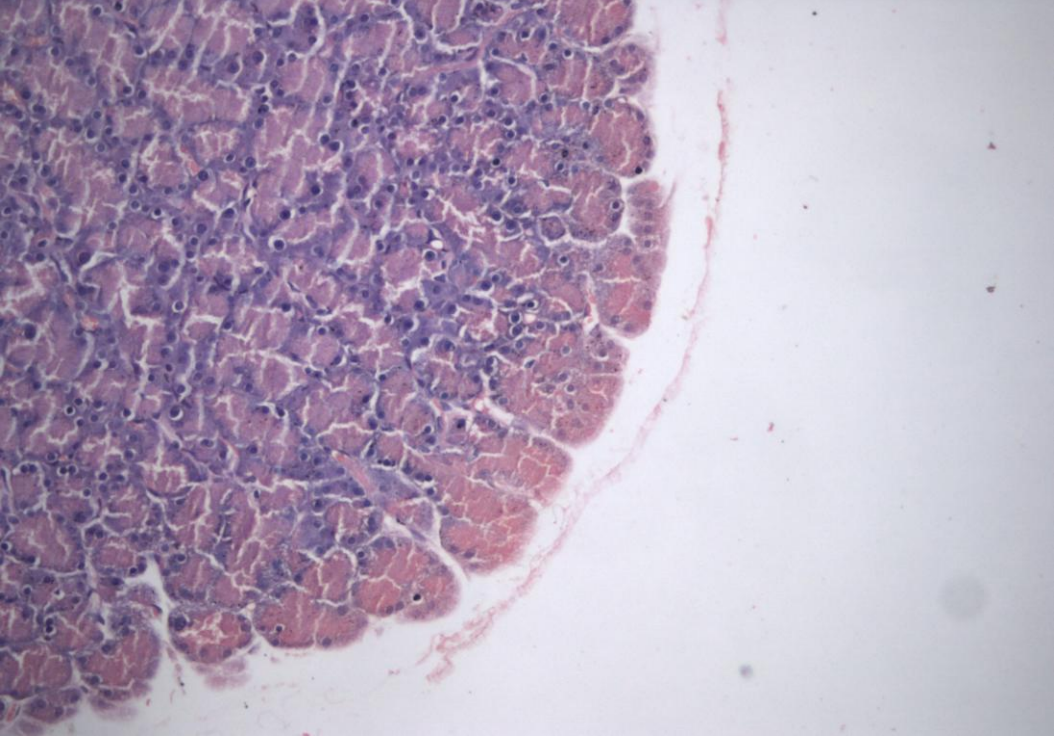
Histopatolojik değerlendirme:

Patolojik inceleme için ayrılan pankreas doku örneği hemen %10 tamponlu formol içine batırıldı. Ardından pankreatik doku örnekleri parafin bloklar halinde hazırlandı, kesildi, hematoxylin-eosin ile boyandı. Işık mikroskopunda değerlendirildi. Nekrotizan pankreatitin ciddiyeti Spormann ve ark.(81) tarafından belirtilen skorum sistemine göre değerlendirildi(resim 5-6).

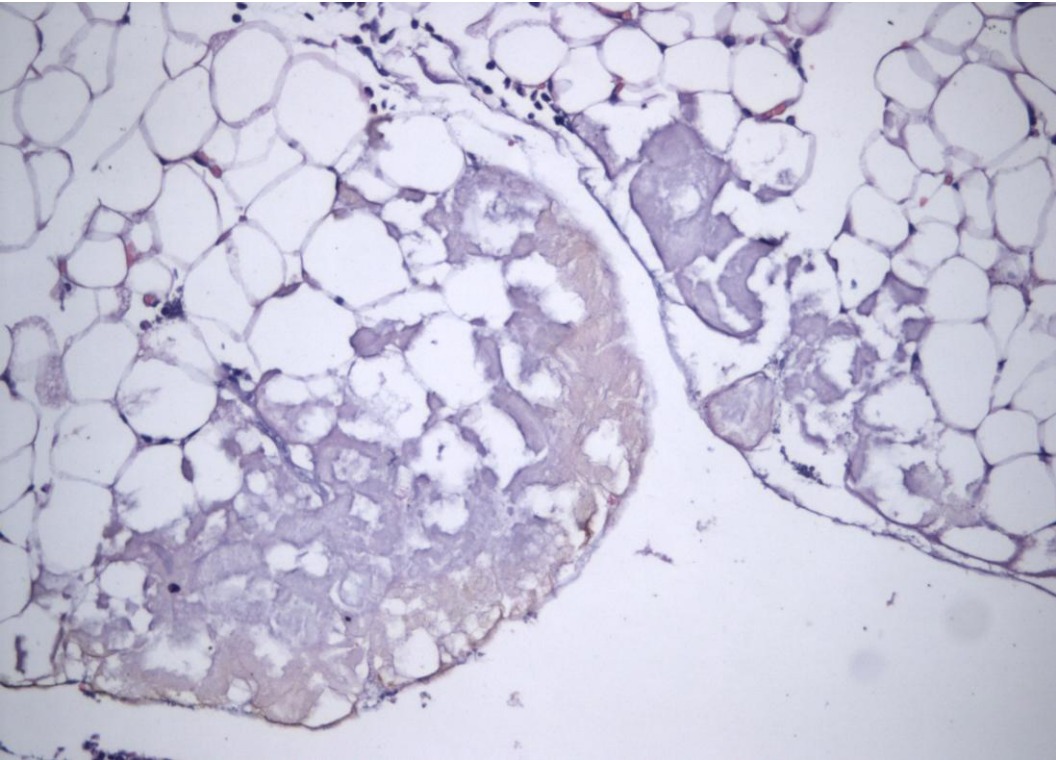
Tablo 3 : Spormann skorum sistemi

| Histolojik patern | Değerlendirme | Puan |
|---------------------------|---|--------|
| Ödem | Hafif | 1 |
| | Orta | 2 |
| | Şiddetli | 3 |
| İnflamatuvar infiltrasyon | Hafif | 1 |
| | Orta | 2 |
| | Şiddetli | 3 |
| Yağ nekrozu | < 2/kesit | 3 |
| | 3-5/kesit | 5 |
| | > 5/kesit | 7 |
| Parankim nekrozu | Fokal (< 5%) ve/veya sublobüler (<20%) | 3 5 |
| | ve/veya lobüler (>20%) | 7 |
| | Hafif | 3 |
| Hemoraji | Orta | 5 |
| | Şiddetli | 7 |

Resim 5. Pankreatitli sıçanda parankim nekrozu



Resim 6. Pankreatitli sıçanda yağ nekrozu



BULGULAR

İnfliximab+taurokolat kullanılan 8 denek hayvanı Grup I; Taurokolat+Salin kullanılan 8 denek hayvanı Grup II; İnfliximab+salin kullanılan 8 denek hayvanı Grup III; salin+salin kullanılan 8 denek hayvanı Grup IV ve kontrol grubu olarak alınan 8 denek hayvanı ise Grup V olarak tanımlandı.

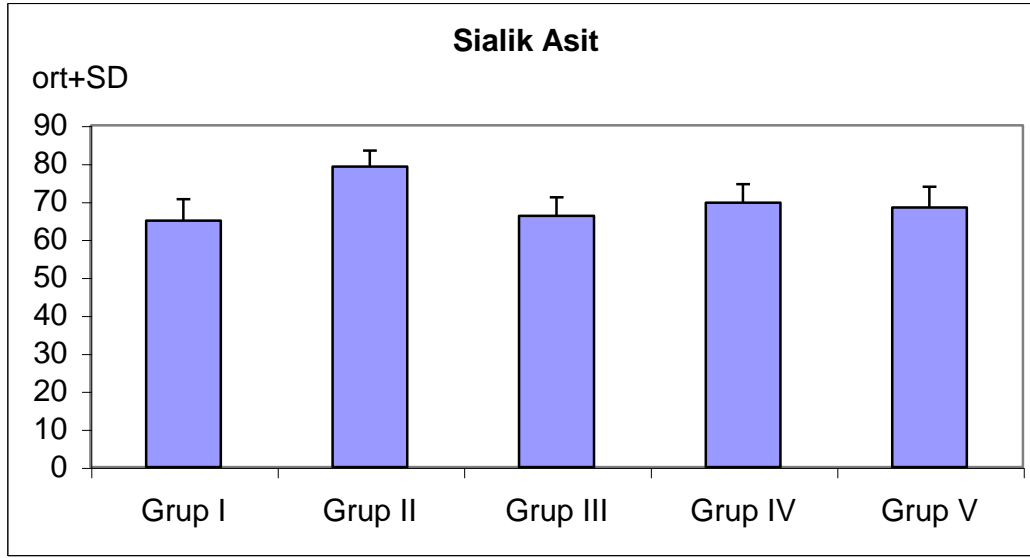
Serum Parametrelerine Göre Değerlendirmeler

Tablo 4 : Serumda bakılan sialik asit durumunun gruplara göre değerlendirilmesi

| | Sialik Asit | | Test |
|----------|-------------|------|-------------------------------------|
| | Ortalama | SD | Değ; p |
| Grup I | 64,88 | 5,64 | F: 9,775 p:0,001** |
| Grup II | 79,10 | 4,29 | |
| Grup III | 66,15 | 4,87 | |
| Grup IV | 69,61 | 4,92 | |
| Grup V | 68,33 | 5,51 | |

*F: Oneway Anova Test; **p<0,01 ileri düzeyde anlamlı*

Grupların serumdaki sialik asit durumuna göre dağılımları istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına bakabilmek için uygulanan post hoc Tukey testinde ise Grup II'nin sialik asit değerleri ortalaması diğer gruplardan ileri düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla $p:0,001$; $p:0,001$; $p:0,006$; $p:0,001$; **$p<0,01$**). Diğer grupların sialik asit ortalama değerleri arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$).



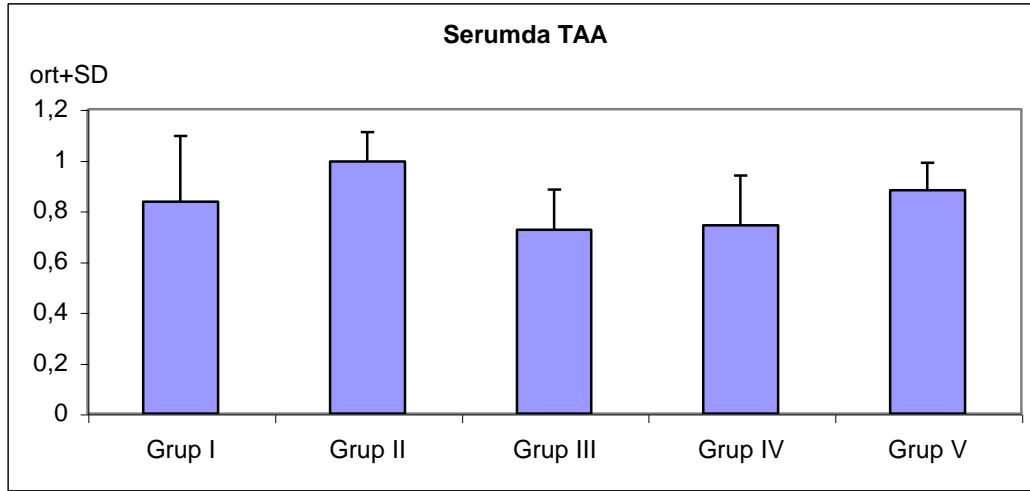
Şekil 2: Serumda bakılan sialik asit ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

Tablo 5 : Serumda bakılan TAA durumunun gruplara göre değerlendirilmesi

| a | TAA Ortalam | SD | Test Değ; p |
|----------|-------------|-------|------------------------------------|
| Grup I | 0,834 | 0,261 | F: 3,023 p:0,030* |
| Grup II | 0,993 | 0,116 | |
| Grup III | 0,725 | 0,158 | |
| Grup IV | 0,741 | 0,198 | |
| Grup V | 0,880 | 0,108 | |

F: Oneway Anova Test; *p<0,05 anlamlı

Grupların serumdaki TAA durumuna göre dağılımları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p<0,05). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına bakabilmek için uygulanan post hoc Tukey testinde ise Grup II'nin TAA değerleri ortalaması diğer Grup III'den yüksek olarak saptanmıştır (p:0,048; **p<0,05**). Diğer grupların TAA ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur (p>0,05).



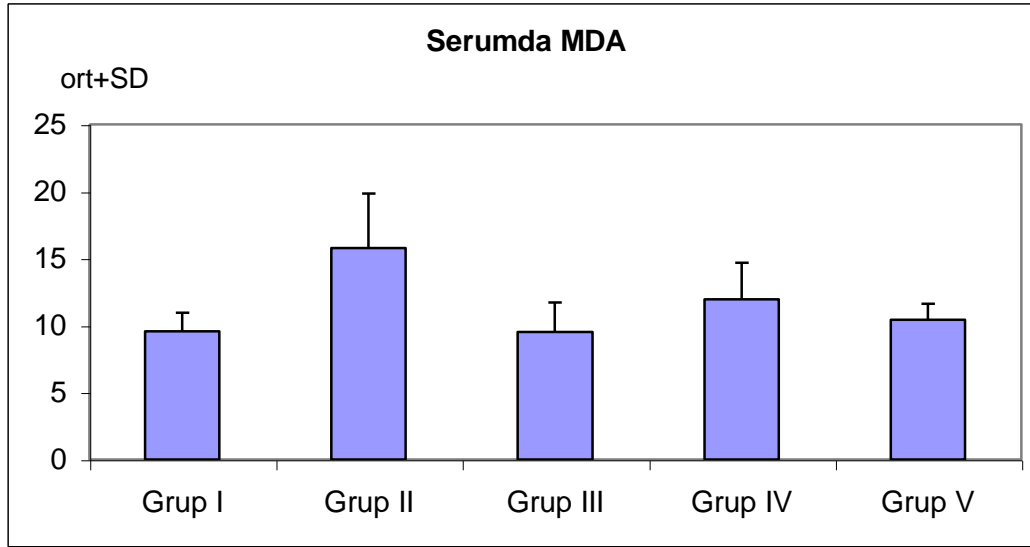
Şekil 3: Serumda bakılan TAA ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

Tablo 6 : Serumda bakılan MDA durumunun gruplara göre değerlendirmesi

| a | MDA Ortalam | SD | Test Değ; p |
|----------|-------------|------|-------------------------------------|
| Grup I | 9,57 | 1,37 | F: 8,316 p:0,001** |
| Grup II | 15,76 | 4,08 | |
| Grup III | 9,49 | 2,24 | |
| Grup IV | 11,93 | 2,76 | |
| Grup V | 10,43 | 1,19 | |

F: Oneway Anova Test; **p<0,01 ileri düzeyde anlamlı

Grupların serumdaki MDA durumuna göre dağılımları istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık göstermektedir (p<0,01). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup II'nin MDA değerleri ortalaması diğer gruplardan ileri düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla p:0,001; p:0,001; p:0,038; p:0,001; **p<0,05**). Diğer grupların MDA ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (p>0,05).



Şekil 4: Serumda bakılan MDA ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

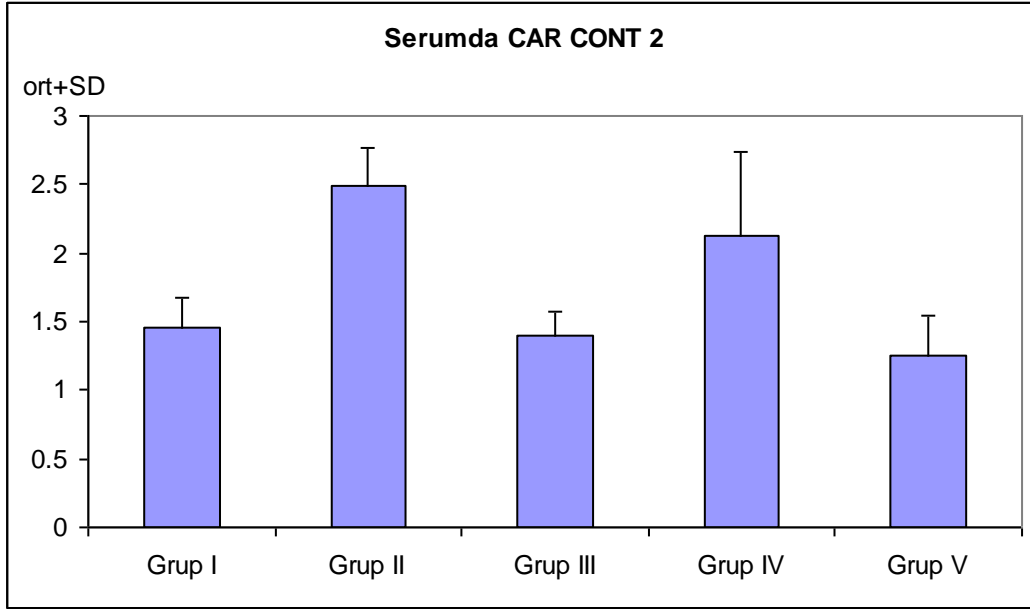
Tablo 7 : Serumda bakılan CAR CONT2 ölçümlerinin gruplara göre değerlendirilmesi

| | CAR CONT 2 | | Test Değ; p |
|----------|------------|-------|--------------------------------------|
| | Ortalama | SD | |
| Grup I | 1,451 | 0,219 | F: 19,165 p:0,001** |
| Grup II | 2,495 | 0,276 | |
| Grup III | 1,393 | 0,180 | |
| Grup IV | 2,127 | 0,604 | |
| Grup V | 1,258 | 0,281 | |

*F: Oneway Anova Test; **p<0,01 ileri düzeyde anlamlı*

Grupların serumdaki CAR CONT2 ölçümlerine göre dağılımları istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup I'in CAR CONT 2 değerleri Grup II ve Grup IV'den anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (sırasıyla $p: 0,001$; $p:0,004$; **$p<0,01$**); Grup II'nin CAR CONT 2 değerleri ortalaması Grup III ve Grup V'den ileri düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla $p:0,001$; $p:0,001$; **$p<0,01$**). Grup III'ün CAR CONT 2

değeri Grup IV'e göre anlamlı düzeyde düşüktür (p: 0,001; **p<0,01**); Grup IV'ün CAR CONT2 değeri Grup V'e göre anlamlı düzeyde yüksektir (p: 0,001; **p<0,01**); Diğer CAR CONT 2 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (p>0,05).



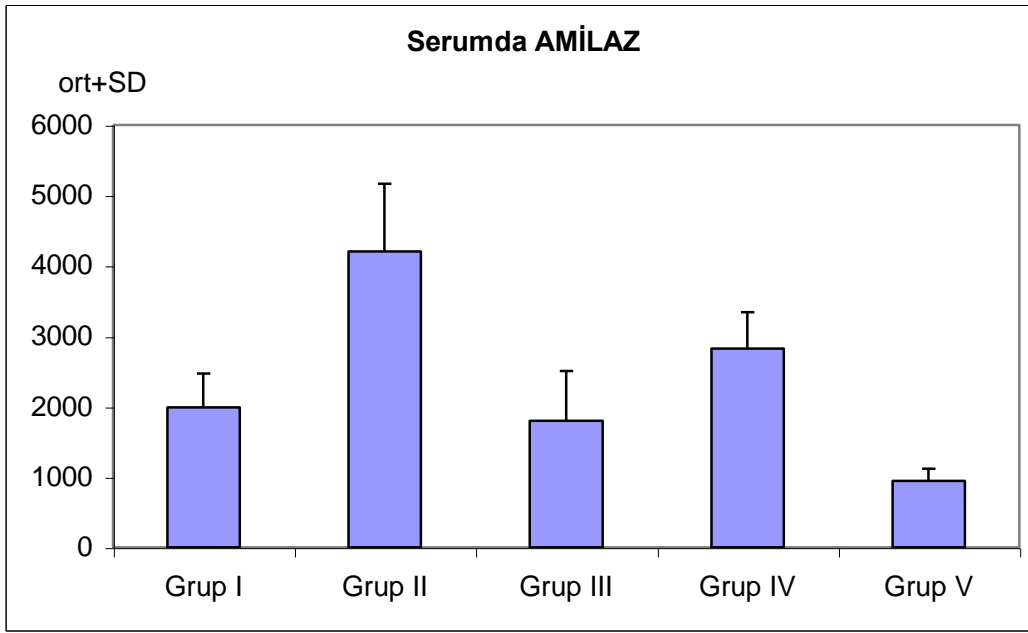
Şekil 5: Serumda bakılan CARCONT 2 ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

Tablo 8 : Serumda bakılan amilaz ölçümlerinin gruplara göre değerlendirmesi

| a | AMİLAZ | | Test Değ; p |
|----------|---------|--------|--------------------------------------|
| | Ortalam | SD | |
| Grup I | 1987,13 | 478,57 | F: 31,106 p:0,001** |
| Grup II | 4200,00 | 960,38 | |
| Grup III | 1799,13 | 705,41 | |
| Grup IV | 2820,75 | 517,30 | |
| Grup V | 943,25 | 176,24 | |

F: Oneway Anova Test; **p<0,01 ileri düzeyde anlamlı

Grupların serumdaki amilaz ölçümlerine göre dağılımları istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık göstermektedir ($p < 0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup I'in amilaz değerleri Grup II ve Grup IV'den anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (sırasıyla $p: 0,001$; $p: 0,016$; **$p < 0,01$** ; **$p < 0,05$**); Grup II'nin amilaz değerleri ortalaması Grup III, Grup IV ve Grup V'den ileri düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla $p: 0,001$; $p: 0,0001$; $p: 0,001$; **$p < 0,01$**). Grup III'ün amilaz değeri Grup IV'e göre anlamlı düzeyde düşüktür ($p: 0,019$; **$p < 0,05$**); Grup IV'ün amilaz değeri Grup V'e göre anlamlı düzeyde yüksektir ($p: 0,001$; **$p < 0,01$**); Diğer amilaz ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir ($p > 0,05$).



Şekil 6: Serumda bakılan amilaz ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

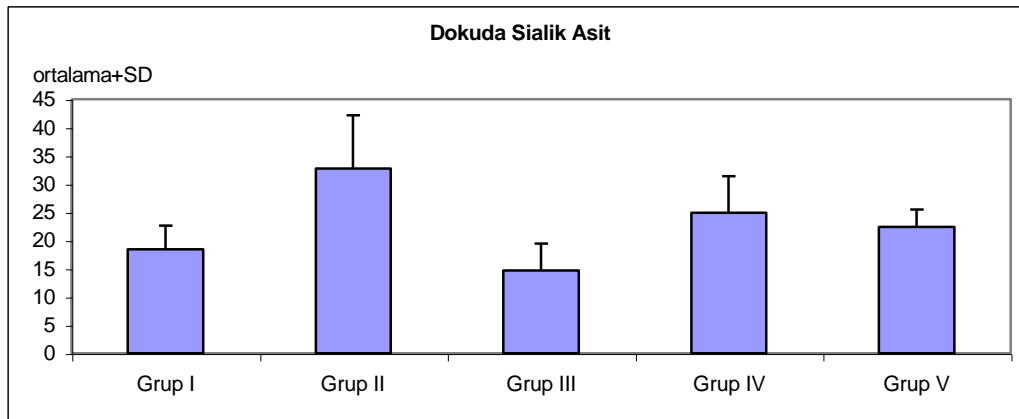
DOKU Parametrelerine Göre Değerlendirmeler

Tablo 9 : Dokuda bakılan sialik asit durumunun gruplara göre değerlendirmesi

| | Sialik Asit | | Test Değ; |
|----------|-------------|------|--------------------------------------|
| | Ortalama | SD | p |
| Grup I | 18,42 | 4,17 | F: 10,393 p:0,001** |
| Grup II | 32,68 | 9,44 | |
| Grup III | 14,65 | 4,80 | |
| Grup IV | 24,88 | 6,45 | |
| Grup V | 22,42 | 3,00 | |

F: Oneway Anova Test; **p<0,01 ileri düzeyde anlamlı

Grupların dokudaki sialik asit durumuna göre dağılımları istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık göstermektedir (p<0,01). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına bakabilmek için uygulanan post hoc Tukey testinde ise Grup II'nin sialik asit değerleri ortalaması Grup I, Grup III ve Grup V'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla p:0,001; p:0,001; p:0,013; **p<0,01, p<0,05**). Grup III'ün sialik asit değerleri Grup IV'e göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p:0,014; **p<0,05**). Diğer grupların sialik asit ortalama değerleri arasında anlamlı farklılık görülmemiştir (p>0,05).



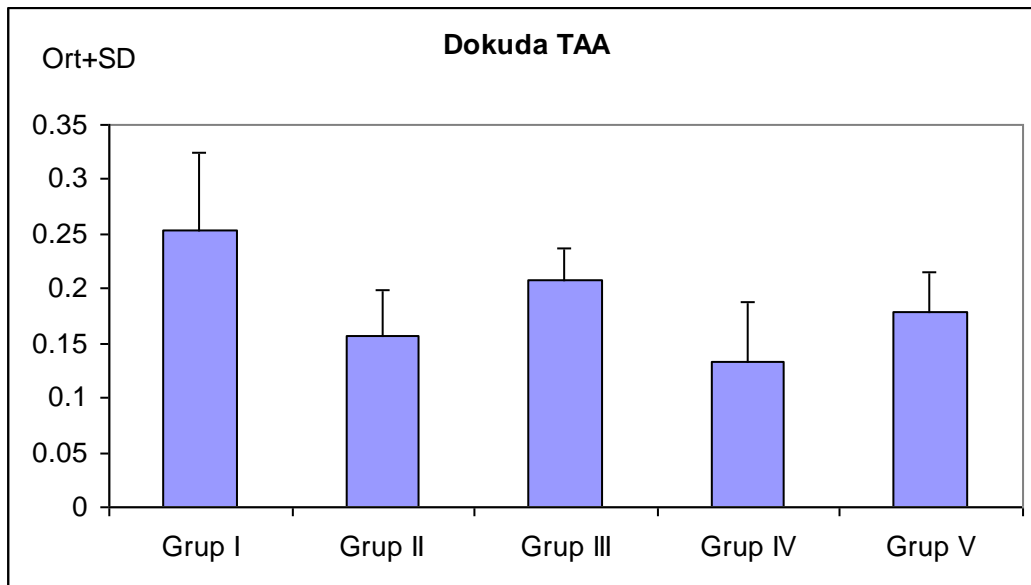
Şekil 7: Dokuda bakılan sialik asit ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

Tablo 10 : Dokuda bakılan TAA durumunun gruplara göre değerlendirmesi

| | TAA | | Test Değ; |
|----------|----------|-------|-------------------------------------|
| | Ortalama | SD | p |
| Grup I | 0,253 | 0,071 | |
| Grup II | 0,157 | 0,042 | F: 7,174 p:0,001** |
| Grup III | 0,208 | 0,029 | |
| Grup IV | 0,133 | 0,054 | |
| Grup V | 0,179 | 0,036 | |

*F: Oneway Anova Test; **p<0,01 ileri düzeyde anlamlı*

Grupların dokudaki TAA durumuna göre dağılımları istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup I'nin TAA değerleri ortalaması diğer Grup II, grup IV ve Grup V'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır ($p:0,004$; $p:0,001$; $p:0,036$; **$p<0,01$** ; **$p<0,05$**). Grup III'ün TAA değerleri ise Grup IV'e göre anlamlı düzeyde yüksektir ($p:0,033$; **$p<0,05$**). Diğer grupların TAA ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur (**$p>0,05$**).



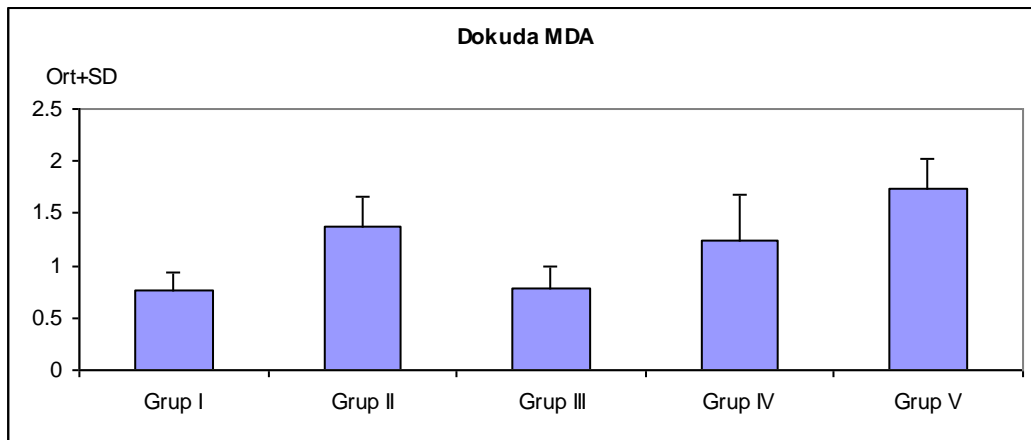
Şekil 8: Dokuda bakılan TAA ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

Tablo 11 : Dokuda bakılan MDA durumunun gruplara göre değerlendirmesi

| | MDA | | Test Değ; |
|----------|----------|-------|--------------------------------------|
| | Ortalama | SD | p |
| Grup I | 0,762 | 0,166 | F: 15,369 p:0,001** |
| Grup II | 1,367 | 0,289 | |
| Grup III | 0,774 | 0,223 | |
| Grup IV | 1,247 | 0,433 | |
| Grup V | 1,728 | 0,304 | |

*F: Oneway Anova Test; **p<0,01 ileri düzeyde anlamlı*

Grupların dokudaki MDA durumuna göre dağılımları istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup I'nin MDA değerleri ortalaması Grup II; Grup IV ve Grup V'e göre istatistiksel olarak ileri düzeyde düşük olarak saptanmıştır (sırasıyla $p:0,002$; $p:0,020$; $p:0,001$; **$p<0,01$** ; **$p<0,05$**). Grup II'nin MDA değerleri Grup III'e göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p:0,003$; **$p<0,01$**). Grup III'ün MDA değerleri Grup IV ve Grup V'e göre anlamlı düzeyde düşüktür ($p: 0,024$, $p:0,001$; **$p<0,05$** ; **$p<0,001$**). Grup IV'ün MDA düzeyleri de Grup V'e göre anlamlı derecede düşüktür ($p:0,021$; **$p<0,05$**). Diğer grupların MDA ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (**$p>0,05$**).



Şekil 9: Dokuda bakılan MDA ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

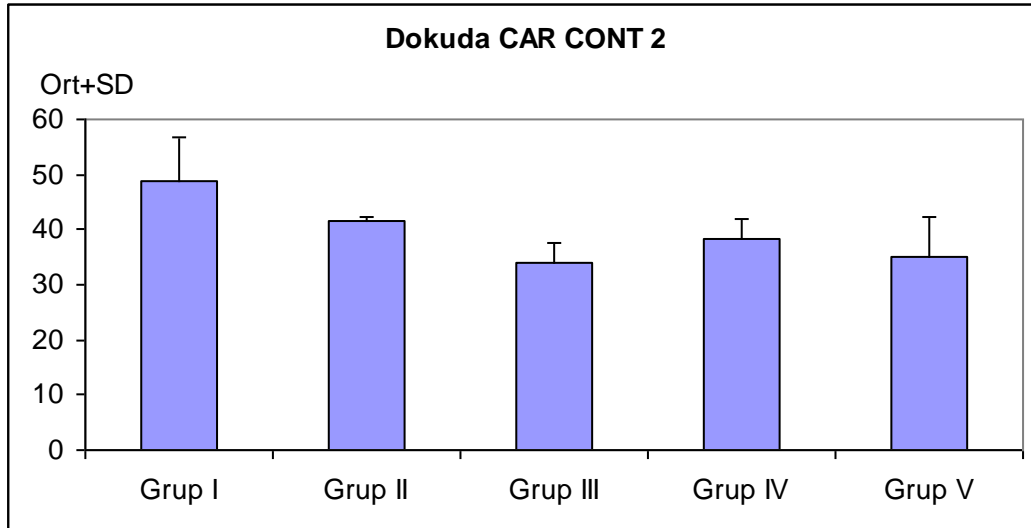
Tablo 12 : Dokuda bakılan CAR CONT2 ölçümlerinin gruplara göre değerlendirilmesi

| | CAR CONT 2 | | Test Değ; <i>p</i> |
|----------|------------|-------|--------------------------------------|
| | Ortalama | SD | |
| Grup I | 48,921 | 7,910 | F: 10,433 p:0,001** |
| Grup II | 41,485 | 0,897 | |
| Grup III | 33,866 | 3,629 | |
| Grup IV | 38,292 | 3,520 | |
| Grup V | 35,215 | 7,022 | |

F: Oneway Anova Test;

****p<0,01 ileri düzeyde anlamlı**

Grupların dokudaki CAR CONT2 ölçümlerine göre dağılımları istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup I'in CAR CONT 2 değerleri Grup III, Grup IV ve Grup V'den anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p: 0,001$; $p:0,002$; $p:0,001$; **$p<0,01$**); Grup II'nin CAR CONT 2 değerleri ortalaması Grup III'den anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla $p:0,047$; **$p<0,05$**). Diğer CAR CONT 2 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (**$p>0,05$**).



Şekil 10: Dokuda bakılan CARCONT 2 ölçümlerinin gruplara göre dağılımı

Tablo 13 . Patolojik ölçümlerin gruplara göre değerlendirmesi

| | Grup I | Grup II | Grup III | Grup IV | Grup V | Test değ, p |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------------|
| | Ort±SD (Medyan) | Ort±SD (Medyan) | Ort±SD (Medyan) | Ort±SD (Medyan) | Ort±SD (Medyan) | |
| Ödem | 2,00±0,53 (2,0) | 2,50±0,75 (3,0) | 2,00±0,53 (2,0) | 3,00±0,0 (3,0) | 1,50±0,53 (1,5) | KW:21,204 p:0,001** |
| İltihap | 0,87±0,35 (1,0) | 1,62±0,51 (2,0) | 1,25±0,46 (1,0) | 1,87±0,64 (2,0) | 0,75±0,88 (0,5) | KW:14,076 p:0,001** |
| Yağ | 2,75±1,90 (3,0) | 5,75±1,03 (5,0) | 1,50±1,60 (1,5) | 2,37±,13 (3,0) | 0,0±0,0 (0,0) | KW:24,459 p:0,001** |
| Parankim nekrozu | 0,37±1,06 (0,0) | 4,87±2,16 (5,0) | 0,37±1,06 (0,0) | 1,00±1,92 (0,0) | 0,0±0,0 (0,0) | KW:22,467 p:0,001** |
| Hemoraji | 1,75±1,48 (2,5) | 4,75±1,66 (5,0) | 1,87±1,55 (3,0) | 1,00±1,92 (0,0) | 0,62±1,87 (0,0) | KW:17,904 p:0,001** |

KW: Kruskal Wallis Test

***p<0,01 ileri düzeyde anlamlı*

Grupların patolojik ölçümlerden **ödem** değerlendirmeleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık görülmektedir ($p<0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına bakmak için uygulanan Mann Whitney U testinde göre ise; Grup I'in ödem ölçümleri Grup IV'den anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p: 0,001$; **$p<0,01$**); Grup II'nin ödem ölçümleri ise Grup V'den anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır ($p:0,014$; **$p<0,05$**). Grup III'ün ödem ölçümleri Grup IV'den anlamlı düzeyde düşük olarak saptanmıştır ($p:0,001$; **$p<0,01$**); Grup IV'ün ödem ölçümleri ise Grup V'den anlamlı düzeyde yüksektir ($p:0,001$; **$p<0,01$**). Diğer ödem ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (**$p>0,05$**).

Grupların patolojik ölçümlerden **iltihap** değerlendirmeleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık görülmektedir ($p<0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup I'in iltihap ölçümleri Grup II ve Grup IV'den anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p: 0,008$; $p:0,003$; **$p<0,01$**); Grup II'nin iltihap ölçümleri ise

Grup V'den anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (p:0,043; **p<0,05**). Grup III'ün iltihap ölçümleri

Grup IV'den anlamlı düzeyde düşük olarak saptanmıştır (p:0,045; **p<0,05**); Grup IV'ün iltihap ölçümleri ise Grup V'den anlamlı düzeyde yüksektir (p:0,019; **p<0,05**). Diğer iltihap ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (**p>0,05**).

Grupların patolojik ölçümlerden **yağ nekrozu** değerlendirmeleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık görülmektedir (p<0,01). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup I'in yağ nekrozu ölçümleri Grup II'den anlamlı düzeyde düşük ve Grup V'den anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla p: 0,003; p:0,003; **p<0,01**); Grup II'nin yağ nekrozu ölçümleri ise Grup III, Grup IV ve Grup V'den anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla p:0,001; p:0,003; p:0,001; **p<0,01**). Grup III'ün yağ nekrozu ölçümleri Grup V'den anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (p:0,025; **p<0,05**); Grup IV'ün yağ nekrozu ölçümleri ise Grup V'den anlamlı düzeyde yüksektir (p:0,010; **p<0,05**). Diğer yağ nekrozu ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (**p>0,05**).

Grupların patolojik ölçümlerden **parankim nekrozu** değerlendirmeleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık görülmektedir (p<0,01). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup I'in parankim nekrozu ölçümleri Grup II'den anlamlı düzeyde düşük olarak saptanmıştır (p:0,002; **p<0,01**); Grup II'nin parankim nekrozu ölçümleri ise Grup III, Grup IV ve Grup V'den anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla p:0,002; p:0,006; p:0,001; **p<0,01**). Diğer parankim nekrozu ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (**p>0,05**).

Grupların patolojik ölçümlerden **hemoraji** değerlendirmeleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık görülmektedir (p<0,01). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığına baktığımızda ise; Grup I'in hemoraji ölçümleri Grup II'den anlamlı düzeyde düşük olarak

saptanmıştır (p:0,004; **p<0,01**); Grup II'nin hemoraji ölçümleri ise Grup III, Grup IV ve Grup V'den anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla p:0,006; p:0,004; p:0,001;

p<0,01). Diğer hemoraji ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir (**p>0,05**).

İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Kolmogroff Smirnoff testi sonucunda normal dağılım gösteren parametrelerin değerlendirmelerde Oneway Anova test ve post hoc olarak Tukey HSD testi; patolojik değerlendirmelerde ise Kruskal Wallis test ve Mann Whitney U test kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık p<0.05 düzeyinde değerlendirildi.

TARTIŞMA

Heinkel(82) sıçanlarda taurokolat ile oluşturulan akut nekrotizan pankreatit modelini ilk tanımladığından beri bu model yaygın olarak kullanılmış ve yerleşmiştir (83-86). Taurokolat konsantrasyonunun artırılması pankreatit şiddetini artırır. %2'lik taurokolat infüzyonu küçük bir nekroz ve düşük mortalite ile sonuçlanırken, %5'lik taurokolat infüzyonu saatler içinde gelişen fatal pankreatite neden olur. Schwarz ve ark. (87) tarafından oluşturulan pankreatit modelinde ortalama 36 saatlik bir sürvi elde edebilmek için %3'lük taurokolat enjeksiyonu yapılmış ve 8 saat içinde ciddi akut nekrotizan pankreatit tablosu oluşmuştur. Biz de çalışmamızda Schwarz ve arkadaşları tarafından oluşturulan pankreatit modelini örnek aldık. Koledoğa %3'lük taurokolat infüzyonu yapıldı. 8 saat sonra sakrifiye edilerek alınan pankreas doku örmeklerinde belirgin yağ ve parankim nekrozu tespit edildi.

TNF- α , başlıca makrofajlardan türetilen , organizmanın yaralanma veya hastalığa karşı birçok patofizyolojik cevabının oluşmasında büyük rol oynayan bir sitokindir. Artmış TNF- α düzeylerinin varlığı ile ilişkilendirilen septik şokun sistemik belirtileri, ciddi akut pankreatitli hastalardaki ile yakın benzerlik göstermektedir(13).

DeneySEL akut pankreatitte TNF gen tanımlanması birinci saatte artar(37). Pankreatitli hayvanların serumundaki TNF- α aktivitesindeki ani artış, hastalığın indüksiyonundan sonra 1-3. saatler arasında meydana gelir(39). Bu nedenle TNF aktivitesinin İnfliximab tarafından mümkün olan en erken dönemde engellenmesi mantıklı olacaktır. Oruç ve ark.(88) tarafından yürütülen çalışmada İnfliximab pankreatit tablosunun başlangıcında verildi ve belirgin olarak etkili olduğu görüldü. Hızlı yıkılması nedeniyle TNF- α , 14-18 dakika kadar çok kısa yarılanma ömrüne sahiptir.

Bu nedenle TNF'nin serumda olmaması veya çok düşük düzeylerde olması gerçek patoloji ile korelasyon göstermeyebilir(31). Hughes ve ark.(39) tarafından yürütülen çalışmada anti-TNF α antikoru pankreatit indüksiyonundan 15 dakika önce, Grewal ve ark. (13) tarafından yürütülen çalışmada ise pankreatit indüksiyonundan 30 dakika önce uygulanmıştır. Bu durumla ilgili olarak akut pankreatitte anti-TNF tedavisinin faydalı etkisi pankreatit tablosunun başlamasının ardından verildiğinde en fazladır (39). Norman ve ark., TNF antagonisti verilmesinde, pankreatit ortaya çıkıp, dolaşımdaki sitokin düzeyi yükselene (ancak maksimum düzeye değil) kadar geciktirilmesinin profilaktik antagonizmden daha etkili olduğu üzerinde durmaktadır(89). Çalışmamızda infliximab infüzyonunu pankreatit indüksiyonundan hemen önce uyguladık ve biyokimyasal ve histopatolojik açıdan anlamlı sonuçlar elde ettik.

Akut pankreatitin sistemik komplikasyonlarının düzelmesinde TNF- α nötralizasyonunun etkisi en iyi TNF- α 'nın bilinen etkilerinin incelenmesi ile açıklanır. TNF- α 'nın hem vasküler endotel üzerine direkt etkisi, hem de lökositleri içine alan indirekt mekanizmalar yoluyla vasküler geçirgenliği artırdığı düşünülür(13). Böylece lökositlerin inflamasyon bölgesinde toplanmasını ve aktivasyonunu artırır(90). Aktive olmuş lökositlerin, kapiller geçirgenliği artırdığı bilinen TNF- α 'nın etkisi altında çeşitli medyatörler salgıladığı bilinir. Bu medyatörler platelet aktive edici faktör(PAF) (91), nitrik oksit (92), fosfolipaz A₂ (93-95) ve serbest oksijen radikallerini(90)içerir.

Bu medyatörlerden serbest oksijen radikallerinin akut pankreatit patogenezinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir(96-97). Reaktif oksijen moleküllerinin çeşitli patolojik durumlarda üretildiği, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu ile hücre hasara neden olduğu bilinir. Lipid ve proteinler üzerindeki serbest radikallerin oksidatif etkileri bir antioksidan spektrum tarafından kontrol edilir. Lipid peroksidatları, protein karbonil içeriği, antioksidan vitaminler ve antioksidan enzim aktivitelerinin değişen düzeyi

hastalarda oksidatif stresi izlemek için sık olarak çalışıldı. Daha da fazlası, protein, lipid ve DNA'nın yanısıra indirgenmemiş terminal sialik asit kısımlarının reaktif oksijen moleküllerinin hedef molekülü olabileceği bildirildi. Reaktif oksijen molekülleri spesifik olarak sialik asit kısımlarını kırıp serbest bırakır. Sialik asit glikolipid ve glikoproteinlerin karbonhidrat zincirlerinin terminal kısmında yerleşmiştir. Biyolojik sistemlerdeki fonksiyonları; adaptasyon, proteaz direnci, yüklenme, hücre tanırma, protein hedef olma ve gelişimsel düzenlemedir(98).

Karbonilasyon proteinlerin oksidatif hasarının bir markeridir. Total antioksidan aktivite düzeyi ölçümünün, antioksidanların basit toplamına dayanan bir sonuca karşılık entegre bir gösterge sağladığı bildirilmiştir(99).

Bizim çalışmamızda pankreas dokusundaki oksidatif stress lipid peroksidasyon ürünü olan MDA, karbonil kontent (karbonil içerik), sialik asit ve total antioksidan aktivite (TAA) parametreleri kullanılarak değerlendirildi. Serum sialik asit ve MDA düzeyinin pankreatit oluşturulan grupta (grup II) diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.01$). Karbonil içerik düzeylerinin pankreatit grubunda (grup II) infliximab uygulanan gruba göre (grup I) anlamlı yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.01$).

Çoğunlukla sistemik inflamatuvar cevap sendromu(SIRS) mevcut olan hastalarda artmış oksiradikal düzeyi ve azalmış antioksidan düzeyinin multiple organ yetmezliğine götürdüğüne inanılır(99). Ancak serum total antioksidan kapasitesinin septik şoktaki kritik cerrahi hastalarda arttığı görülmüştür(100). Ayrıca SIRS gelişmiş olan yaşamayan hastaların plazma örneklerinde endojen peroksi radikal yakalama kapasitesinin artmış olduğu görülmüştür(101). Dolayısıyla ciddi sepsis durumlarında TAA düzeyi halen tartışma konusudur(99). Çalışmamızda ise serum TAA düzeyleri arasında grup II ve grup III arasında anlamlı farklılık tespit

edilmiş ($p<0.05$) ancak diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Ancak doku TAA düzeyine bakıldığında infliximab uygulanmış olan grupta, pankreatit grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.

Hiperamilazemi pankreas asiner hasarının bir belirtisidir. TNF- α tarafından indüklenen birçok medyatörün ilişkisi olduğu gösterilmesine rağmen asiner hücre hasarının etiolojisi tam olarak tanımlanmamıştır. Bu medyatörler aktive olmuş proteolitik enzimler, fosfolipaz A₂ ve serbest oksijen radikallerini kapsar ve tümü akut pankreatitli insan ve hayvanların serum, idrar ve asit sıvılarında ölçülebilir. TNF- α 'nın nötralizasyonu bu medyatörlerin düzeyini azaltır ve böylece asiner hücre hasarı ve hiperamilazemi iyileştirir(13). Çalışmamızda TNF- α nötralizasyonu ile serum amilaz düzeyi, pankreatit oluşturulmuş grupta kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek ($p<0.01$) ve infliximab verilmiş olan grupta ise pankreatit grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur($p<0.01$)

Geçtiğimiz on yılda akut pankreatitte TNF- α blokajının faydalı etkisini gösteren bir çok çalışma yayınlanmıştır. Hughes ve ark.(39) anti-TNF antikorunun sıçanlarda akut pankreatit ile ilişkili komplikasyonları düzelttiğini gösterdi. Grewal ve ark. (13) TNF'nin poliklonal blokajını kullanarak biyokimyasal bulgularda belirgin düzelme olduğunu gösterdiler. Ancak anti-TNF poliklonal antikor verilmesi ile pankreatitin histolojik değerlendirmesinde anlamlı bir farklılık olmadığını saptadılar. Benzer olarak Norman ve ark.(37) çözünür TNF reseptör antagonisti kullanarak deneysel oluşturulmuş pankreatitte mortalite ve şiddetin azaldığını gösterdiler. Guice ve ark.(102) TNF- α antagonisti ile tedavi sonrası pankreatik ödemde artış olduğunu gösterdiler. Oruç ve ark. (88) tarafından yapılan çalışmada infliximab'ın akut ödematöz pankreatitte özellikle nötrofil aktivitesini baskılayarak antiinflamatuvar rol oynadığını gösterdiler.

Ancak pankreatik ödemde değişiklik saptamadılar. Oluşturdukları şiddetli nekrotizan pankreatit modelinde ise İnfliximab'ın parankim ve yağ nekrozunu belirgin olarak düzelttiğini fakat nötrofil aktivitesini ve pankreas ödemi değiştirmedini bildirdiler. Bizim çalışmamızda ise, oluşturduğumuz nekrotizan pankreatit modelinde İnfliximab'ın yağ nekrozu, parankim nekrozu ve hemoraji bulgularını anlamlı düzeyde iyileştirdiğini gördük ($p<0.01$). Farklı olarak nötrofil infiltrasyonunda da anlamlı düzelme mevcuttu ($p<0.01$). Ancak ödem bulgusu grup I ve grup II arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$).

Akut pankreatitte hastalarda İnfliximab'ın tedavi edici etkisini gösteren herhangi bir yayınlanmış veri yoktur. Ancak Trientafillidis ve ark.(103) tarafından, tedaviye dirençli Crohn hastalığında akut pankreatit komplikasyonu gelişen bir olguda İnfliximab uygulanması bildirilmiştir. Chron hastalığı ve akut pankreatitte TNF merkezli patofizyoloji bilgisine dayanarak bu hastayı İnfliximab ile tedavi etmeye karar verdiler. Olguya uygulanan, her seferinde iki İnfliximab infüzyonu içeren iki tedavi protokolü sonrası mükemmel sonuç elde ettiler. Aksine Fefferman ve ark(104). tarafından bildirilen bir olguda Chron hastalığı nedeniyle İnfliximab uygulamasının hemen ardından tekrarlayan kronik pankreatit atakları saptanmıştı. Dolayısı ile TNF- α 'nın akut pankreatit üzerindeki etkilerini ve İnfliximab'ın tedavi edici etkisini araştırmaya yönelik daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak; taurokolat ile oluşturduğumuz akut nekrotizan pankreatit modelinde bir monoklonal anti-TNF antikoru olan İnfliximab'ın uygulanması sonucu elde ettiğimiz sonuçlar ümit vericidir. Çalışmamıza göre TNF- α akut pankreatit patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. İnfliximab uygulanması ile akut pankreatitin biyokimyasal ve histopatolojik bulgularında anlamlı düzelme elde edilmiştir. Henüz İnfliximab'ın akut pankreatit tedavisinde kullanımı ile ilişkili klinik çalışmalar mevcut değildir.

Bu çalışmamız ile İnfliximab'ın akut pankreatit tedavisinde kullanımını ile ilgili klinik çalışmalara zemin hazırlayacak destekleyici bulgular elde edilmiştir.

ÖZET

AMAÇ

Akut pankreatit, olguların çoğunluğunda sistemik inflamatuvar cevaba neden olan lokal inflamatuvar bir süreçtir. TNF'nin, inflamatuvar cevap üzerindeki merkezi önemi açısından bakıldığında, araştırmacılar bu sitokinin üretiminin ve etkilerinin engellenmesini hastalığın tedavisi için mantıklı bir strateji olarak kabul etmektedirler. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda oluşturulan şiddetli nekrotizan pankreatit modelinde, monoklonal TNF- α antikoru olan İnfliximab'ın tedavi edici etkisini araştırmaktır.

YÖNTEM

Çalışma, yaklaşık 250gr. ağırlığında 40 Wistar albino erkek sıçan ile yapıldı. Sıçanlar 5 gruba ayrıldı. Grup I (n:8) ve grup II (n:8) sıçanların biliyopankreatik kanalına %3'lük sodyum taurokolat enjeksiyonu yapılarak şiddetli nekrotizan pankreatit tablosu oluşturuldu. Grup III ve grup IV'teki sıçanların biliyopankreatik kanalına ise basınç etkisini gösterebilmek için salin infüzyonu yapıldı. İnfliximab grup I ve grup III'teki sıçanlara 8mg/kg dozunda, kuyruk veninden laparotomiden hemen önce 20 dk. süreyle verildi. Grup II ve IV'ün kuyruk veninden ise salin verildi. Grup V'teki sıçanlara sham laparotomi uygulandı. Serum amilaz ile serum ve dokuda sialik asit, MDA, karbonil kontent ve total antioksidan aktivite(TAA) ve pankreas histopatolojisi değerlendirildi.

SONUÇLAR

Uyguladığımız yöntem ile şiddetli nekrotizan pankreatit modeli başarılı bir şekilde oluşturuldu. İnfliximab uyguladığımız grupta (grup I), serum sialik asit, MDA, karbonil kontent ve amilaz aktivitesi pankreatit grubundan (grup II) belirgin olarak düşük saptandı(p<0.01). Grup I ve

grup II'in, serum TAA'i arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Grup I'in doku örneklerinde sialik asit ve MDA düzeyi grup II'den anlamlı düşük saptandı. Ancak dokuda TAA düzeyi, grup I sıçanlarda, grup II sıçanlara göre anlamlı yüksek bulundu($p<0.01$). Her iki grubun karbonil içeriğinde anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Histolojik değerlendirmede , pankreatit grubunun doku kesitlerinde yaygın asiner nekroz ve yağ nekrozu, hemoraji ve inflamasyon mevcuttu. Grup I sıçanlarda , asiner nekroz, yağ nekrozu, inflamasyon ve hemoraji bulgularında düzelme gözlemlendi($p<0.01$). Fakat ödem bulgusunda iyileşme gözlenmedi($p>0.05$).

SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları ümit vericidir. Monoklonal anti-TNF antikorunu, İnfliximabın uygulanması ile akut nekrotizan pankreatit tablosunun biyokimyasal ve histopatolojik bozukluklarında belirgin düzelme gözlemlenmiştir. Henüz İnfliximab'ın şiddetli akut pankreatit tedavisinde kullanımı ile ilişkili klinik çalışmalar mevcut değildir. Bu çalışmamız ile İnfliximab'ın şiddetli akut pankreatit tedavisinde kullanımı ile ilgili klinik çalışmalara zemin hazırlayacak destekleyici bulgular elde edilmiştir.

SUMMARY

OBJECTIVE

Acute pancreatitis is a local inflammatory process that leads to systemic inflammatory response in majority of cases. In the view of the central importance of TNF- α as a mediator of inflammatory response in acute pancreatitis, investigators have regarded blocking the production or the actions of this cytokine as a reasonable strategy for treating the disease. To aim of this study is to investigate the therapeutic effects of the monoclonal TNF antibody, Infliximab, in severe necrotizing pancreatitis model in rats.

METHODS

In this study, 40 Wistar male rats, weighing approximately 250 g, were studied. Rats were randomly divided into 5 groups. Severe necrotizing pancreatitis was induced in group I (n:8) and group II (n:8) rats by retrograde injection of 3% taurocholate into the common biliopancreatic duct. In group III (n:8) and group IV (n:8) rats, normal saline was introduced into the common biliopancreatic duct to mimic a pressure effect. Infliximab (8mg/kg) was infused through tail vein of the group I and III rats for 20 minutes just before induction of the pancreatitis. Normal saline were infused through tail vein of the group II and IV rats instead. Group V (n:8) rats were sham operated. Animals were sacrificed 8 hours after taurocholate infusion. Serum amylase activity, serum and tissue sialic acid, carbonyl content, MDA and total antioxidant activity and pancreatic histopathology were assessed.

RESULTS

Our method of inducing severe necrotising pancreatitis was successful. In Infliximab infused group (group I), serum sialic acid, MDA,

carbonyl content and amylase activity were significantly lower than pancreatitis group (group II) ($p < 0.01$). There were not significant difference of the serum TAA levels between group I and II ($p > 0.05$). Tissue sialic acid and MDA levels of group I were significantly lower than of group II ($p < 0.01$). But tissue TAA level of group I was significantly higher than of group II ($p < 0.01$). Carbonyl content of the group I was not different from group II significantly ($p > 0.05$).

Histologically, pancreatic sections from pancreatitis group demonstrated extensive acinar and fat necrosis, hemorrhage and inflammation. In group I, Infliximab improves the findings of acinar and fat necrosis, inflammation and hemorrhage ($p < 0.01$). But there was not improvement of the edematous alteration ($p > 0.05$).

CONCLUSION

The results of this study are promising. It was demonstrated that the administration of the anti-TNF monoclonal antibody, Infliximab, resulted in a significant improvement in biochemical and histopathological derangements in acute necrotising pancreatitis. There is not a clinical study about the therapeutic effect of the Infliximab in severe acute pancreatitis, yet. This study would have the supportive results that might be a basis for clinical investigations about the therapeutic effect of the Infliximab in severe acute pancreatitis.

KAYNAKLAR

1. Leach SD, Gorelick FS, Modlin IM. Acute pancreatitis at its centenary: The contribution of Reginald Fitz. *Ann Surg* 1990;212(1):109-13
2. Yeo CJ, Cameron JL. Exocrine pancreas. Ed: Townsend CM. *Sabiston Textbook of surgery: The biological basis of modern surgical practice*, 16th ed. W.B. Saunders Company 2001,1112-1143 .
3. Steer ML, Meldolesi J, Figarello C. Pancreatitis, the role of lysozymes. *Dig Dis Sci* 1984;29:934-938.
4. Vogel JD, Yeo CJ. Acute pancreatitis. Ed: Zuidema GD, Yeo CJ. *Shackelford's surgery of the alimentary tract*, 5th ed. W.B.Saunders Company 2002,9-25.
5. Yamanel L, Mas MR, Comert B, Isik AT, Aydin S, et al. The effect of activated protein C on experimental acute necrotizing pancreatitis. *Critical care* 2005;9:R184- R190.
6. Neoptolemos JP, Raraty M, Finch M, Sutton R. Acute pancreatitis: The substantial human and financial costs. *Gut* 1998;42:886-891.
7. Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg* 1998;175:76-83.
8. Gomez-Cambronero LG, Sabater L, Pereda J, Cassinello N, Camps B, Vina J, Sastre J. Role of cytokines and oxidative stress in the pathophysiology of acute pancreatitis: Therapeutical implications. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2002;1:393-403.
9. Forsmark CE, Toskes PP. Acute pancreatitis. Medical management. *Crit Care Clin* 1995;11:295-309
10. Whitcomb DC. Acute pancreatitis: Molecular biology update. *J Gastrointest Surg* 2003;7:940-942.

11. Baron TH, Morgan DE: Acute necrotizing pancreatitis. *N Engl J Med* 1999;340:1412-1417.
12. Pezzilli R, Ceciliato R, Barakat B, Corinaldesi R. Immune-manipulation of the inflammatory response in acute pancreatitis. What can be expected? *JOP* 2004;5:115-121.
13. Grewal HP, Din AM, Gaber L, Kotb M, Gaber AO. Amelioration of the physiologic and biochemical changes of acute pancreatitis using an anti- TNF- α polyclonal antibody. *Am J Surg* 1994; 167:214-219
14. Fink MP. The role of cytokines as mediators of the inflammatory response. Ed: Townsend CM. *Sabiston textbook of surgery: The biological basis of modern surgical practice*, 16th ed. W.B. Saunders Company 2001, 28- 43
15. Fitz R.H. Acute pancreatitis. *Boston Med Surg J* 1889;120:181
16. Halsted W.S. Retrojection of bile into the pancreas, a cause of acute hemorrhagic pancreatitis. *Johns Hopkins Hosp. Bull* 1901;3:179
17. Opie EX. The etiology of acute hemorrhagic pancreatitis. *Johns Hopkins Hosp Bull* 1901;3:182
18. Ranson JH, Rifkind KM, Roses DF, et al. Prognostic signs and the role of operative management in acute pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 1974;139: 69-81
19. Whitcomb DC, Preston RA, Aston CE, et al. A gene for hereditary pancreatitis maps to chromosome 7q35. *Gastroenterology* 1996;110:1975-80
20. Norman J, Franz M, Riker A, et al. Rapid elevation of proinflammatory cytokines during acute pancreatitis and their origination within the pancreas. *Surg Forum* 1994; 45:148-160
21. Beger HG, Rau B, Mayer J, et al. Natural course of acute pancreatitis. *World J Surg* 1997;21:130-5

22. Sekimoto M, Takada T, Kawarada Y, Hirata K, Mayumi T, et al. JPN guidelines for the management of acute pancreatitis: epidemiology, etiology, natural history and outcome predictors in acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2006;13:10-24
23. Gullo L, Migliori M, Olah A, Farkas G, Levy P, Arvanitakis C, et al. Acute pancreatitis in five European countries: etiology and mortality. *Pancreas* 2002;24(3):223-227
24. Lankisch PG, Assmus C, Lehnick D, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Acute pancreatitis: does gender matter? *Dig Dis Sci* 2001; 46(11):2470-4
25. Lankisch PG, Lowenfels AB, Maisonneuve P. What is the risk of alcoholic pancreatitis in heavy drinkers? *Pancreas* 2002;25(4):411-12
26. Blamey SL, Imrie CW, O'Neil J, et al. Prognostic factors in acute pancreatitis. *Gut* 1984;25:1340-6
27. Fan ST, Lai EC, Mok FP, et al. Prediction of the severity of acute pancreatitis. *Am J Surg* 1993;166:262-8
28. Way L, Sleisenger M. Cholelithiasis: Chronic and acute cholecystitis. Ed: Sleisenger M, and Fordtran J. *Gastrointestinal Disease*. Philadelphia, W.B. Saunders 1989, 1691-714.
29. Moreau JA, Zinsmeister AR, Melton LJ, et al. Gallstone pancreatitis and the effect of cholecystectomy. A population-based cohort study. *Mayo Clin Proc* 1988;63:466-73
30. Granger J, Remick D. Acute pancreatitis: Models, markers and mediators. *Shock* 2005;24 suppl 1:45-51.
31. Makhija R, Kingsnorth AN. Cytokine storm in acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002;9:401-410
32. Bhatia M, Brady M, Shokuhi S, Christmas S, Neoptolemos JP; Slavin J. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *J Pathol* 2000;190:117-25.

33. Du WD, Yuan ZR, Sun J, Tang JX, Cheng AQ, Shen DM, et al. therapeutic efficacy of high-dose vitamin C on acute pancreatitis and its potential mechanisms. *World J Gastroenterol* 2003;9:2565-9
34. Mayer J, Rau B, Gansauge F, Beger HG. Inflammatory mediators in human acute pancreatitis: clinical and pathophysiological implications. *Gut* 2000;47:546-52
35. De Dios I, Perez M, de la Mano A, Sevillano S, Orfao A, Ramudo L, et al. contribution of circulating leukocytes to cytokine production in pancreatic duct obstruction- induced acute pancreatitis in rats. *Cytokine* 2002;20:295-303
36. Pereda J, Sabater L, Cassinello N, Gomez-Cambronero L, Closa D, Folch-Puy E, et al. effect of simultaneous inhibition of TNF-alpha production and xanthine oxidase in experimental acute pancreatitis: the role of mitogen activated protein kinases. *Ann Surg* 2004;240:108-16
37. Norman JG, Fink GW, Franz MG. Acute pancreatitis induces intrapancreatic tumor necrosis factor gene expression. *Arch Surg* 1995;130:966-70
38. 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
39. Hughes BC, Grewal HP, Gaber LW, et al. Anti-TNF alpha therapy improves survival and ameliorates the pathophysiologic sequelae in acute pancreatitis in the rat. *Am J Surgery*. 1996;171:274-280
40. Osman MO, Kristensen JU, Jacobsen NO, Lausten SB, Deleuran B, Deleuran M, et al. A monoclonal anti-interleukin 8 antibody (WS-4) inhibits cytokine response and acute lung injury in experimental severe acute necrotising pancreatitis in rabbits. *Gut* 1998; 43:232-9.
41. Kusske AM, Rongione AJ, Ashley SW, McFadden DW, Reber HA. Interleukin -10 prevents death in lethal necrotizing pancreatitis in mice. *Surgery* 1996;120:284-8

42. Rongione AJ, Kusske AM, Kwan K, Ashley SW, Reber HA, McFadden DW. Interleukin -10 reduces the severity of acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 1997;112:960-7.
43. Van Laethem JL, Marchant A, Delvaux A, Goldman M, Robberecht P, Velu T, et al. Interleukin 10 prevents necrosis in murine experimental acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1995;108:1917-22
44. Villoria A, Abadia de Barbara' C, Molero X, Alvarez A, Antolin M, Guarner L, et al. early treatment with interleukin -10(IL-10) in severe acute pancreatitis. *Pancreatology* 2003;3:209-269.
45. Rinderknecht H. Fatal pancreatitis, a consequence of excessive leukocyte stimulation? *Int J Pancreatol* 1988;3:105-12.
46. Seo JY, Kim H, Seo JT, Kim KH. Oxidative stress induced cytokine production in isolated rat pancreatic acinar cells: effects of small molecule antioxidants. *Pharmacology* 2002;64:63-70.
47. Kim H, Seo JY, Roh KH, Lim JW, Kim KH. Suppression of NF-kappa B activation and cytokine production by N-acetylcysteine in pancreatic acinar cells. *Free Radic Biol Med* 2000;29:674-83.
48. Ramudo L, Manso MA, Sevillano S, De Dios I. Kinetic study of TNF- α production and its regulatory mechanisms in acinar cells during acute pancreatitis induced by bile-pancreatic duct obstruction. *J Pathol* 2005;206:9-16.
49. Blinman TA, Gukovsky I, Mouria M, Zaninovic V, Livingston E, Pandol SJ, et al. Activation of pancreatic acinar cells on isolation from tissue: cytokine upregulation via p38 MAP kinase. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000;279:C1993-2003.
50. Gukovskaya AS, Gukovsky I, Zaninovic V, Song M, Sandoval D, Gukovsky S, et al. Pancreatic acinar cells produce, release and respond to tumor necrosis factor- α . Role in regulating cell death and pancreatitis. *J Clin Invest* 1997;100:1853-62.

51. Ramudo L, Manso MA, De Dios I. Biliary pancreatitis-associated ascitic fluid activates the production of tumor necrosis factor- α in acinar cells. *Crit Care Med* 2005;33:143-8.
52. Ramudo L, Manso MA, Vicente S, De Dios I. Pro- and anti-inflammatory response of acinar cells during acute pancreatitis. Effect of N-acetyl cysteine. *Cytokine* 2005;32:125-131.
53. Blinman TA, Gukovsky I, Gukoskaya AS, Livingston E, Pandol SJ. Pancreatic acinar cells express a variety of cytokines that are regulated in experimental pancreatitis. *Gastroenterology* 1997;112:A429.
54. Van Laethem JL, Eskinazi R, Louis H, Rickaert F, Robberecht P, Deviere J. Multisystemic production of interleukin 10 limits the severity of acute pancreatitis in mice. *Gut* 1998;43:408-13.
55. Yasuda H, Kataoka K, Ichimura H, Mitsuyoshi M, Iida T, Kita M, et al. cytokine expression and induction of acinar cell apoptosis after pancreatic duct ligation in mice. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:637-44.
56. O'Garra A. Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. *Immunity* 1998;8:275-283.
57. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975;72(9): 3666-70.
58. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, et al. Human tumor necrosis factor: Precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 1984;312:724-729.
59. Beutler B, Mahoney J, Le Trang N, et al. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *J Exp Med* 1985;161:984-995
60. Torti FM, Diekmann B, Beutler B, et al. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: An in vitro model of cachexia. *Science* 1985; 229:867-869

61. Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, et al. Identity of tumor necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 1985;316:552-554.
62. Tartaglia LA, Pennica D, Goeddel DV. Ligand passing: the 75-kDa tumor necrosis factor(TNF) receptor recruits TNF for signaling by 55-kDa TNF receptor. *J Biol Chem* 1993;268:18542-8
63. Peschon JJ, Torrance DS, Stocking KL, et al. TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. *J Immunol* 1998;160:943-52.
64. Dinarello CA. Proinflammatory and antiinflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest* 1997;112:321S-329S
65. Ertel W, Scholl FA, Gallati H, et al. Increased release of soluble tumor necrosis factor receptors into blood during clinical sepsis. *Arch Surg* 1994;129:1330-36.
66. Froom AH, Bemelmans MH, Greve JW, et al: Increased plasma concentrations of soluble tumor necrosis factor receptors in sepsis syndrome: Correlation with plasma creatinine values. *Crit Care Med* 1994;22:803-809
67. Rogy MA, Coyle SM, Oldenburg HS, et al. Persistently elevated soluble tumor necrosis factor receptor and interleukin-1 receptor antagonist levels in critically ill patients. *J Am Coll Surg* 1994;178:132-138.
68. American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:S221-S247.
69. Knight DM, Trinh H, Le J, et al. Construction and initial characterization of a mouse-human chimeric anti-TNF antibody. *Molec Immunol* 1993;30:1443-1453.
70. Scallon BJ, Moore MA, Trinh H, et al. Chimeric anti-TNF-alpha □ □ monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane

TNF-alpha □ □ and activates immune effector functions. *Cytokine* 1995;7:251-259.

71. ten Hove T, van Montfrans C, Peppelenbosch MP, et al. Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn's disease. *Gut* 2002;50:206-211.

72. Akçakanat A, Hamaloğlu E, Özenç A. Deneysel akut pankreatit modelleri. *Klinik ve Deneysel Cerrahi Dergisi* 1997; 5:185-198.

73. Banerjee AK, Galloway SW, Kingsnorth AN. Experimental models of acute pancreatitis. *Br j Surg* 1994;81:1096-103.

74. Hansson K, Lundh G, Stenran U. The toxic effects of bile salts on the pancreas. *Acta Chir Scand* 1967;375:48-64.

75. Guide for the care and use of laboratory animals. Committee on care and use of laboratory animals. Institute of laboratory animal resources, National Reseach Council 1985;83.

76. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-310.

77. Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J Biol Chem.* 1959;234 :1971-5.

78. Levine RL, Garland D, Oliver CN, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified protein. *Methods Enzymol* 1990;186:464-78.

79. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.

80. Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol* 2001;54:356-361.

81. Spormann H, Sokolowski A, Letko G. Effect of temporary ischemia upon development and histological patterns of acute pancreatitis in the rat. *Path Res Pract* 1989;184:507-513

82. Heinkel K. The rat as experimental animal in experimental diagnosis of pancreas. II. production of acute hemorrhagic pancreatitis by injection of bile acid into ductus pancreaticus. *Klin Wochenschr* 1953;31:815
83. Adler G, Kern HF, Scheele GA. Experimental models and concepts in acute pancreatitis. Ed: Go VLW, Gardner JD, Brooks FP, Lebenthal E, DiMagno EP, Scheele GA. *The Exocrine Pancreas: Biology, Pathobiology, and Diseases*. New York: Raven Press; 1986:407-21.
84. Bilchik AJ, Leach SD, Zucker KA, Modlin IM. Experimental models of acute pancreatitis. *J Surg Res* 1990;48:639-47.
85. Aho HJ, Koskensalo SM, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat: sodium taurocholate-induced acute hemorrhagic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1980;15:411-6.
86. Aho HJ, Nevalainen TJ. Experimental Pancreatitis in the rat: ultrastructure of sodium taurocholate-induced pancreatic lesions. *Scand J Gastroenterol* 1980;15:417-24.
87. Schwarz M, Thomsen J, Meyer H, et al. Frequency and time course of pancreatic and extrapancreatic bacterial infection in acute pancreatitis in rats. *Surgery* 2000;127 (4): 427-432
88. Oruç N, Özütemiz Ö, Yükselen V, Nart D, Çelik HA, Yüce G, Batur Y. İnfliximab: A new therapeutic agent in acute pancreatitis? *Pancreas* 2004;28:e1-8
89. Norman JG, Fink GW, Messina J, Carter G, Franz MG. Timing of tumor necrosis factor antagonism is critical in determining outcome in murine lethal acute pancreatitis. *Surgery*. 1996;120(3):515-21.
90. Ming WJ, Bersani L, Mantovani A. Tumor necrosis factor is chemotactic for monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *J Immunol* 1987;138:1469-74.
91. Rabinovici R, Yue TL, Farhat M, Smith EF 3rd, et al. Platelet activating factor (PAF) and tumor necrosis factor-alpha (TNFalpha)

interactions in endotoxemic shock: studies with BN 50739, a novel PAF antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;255:256-63.

92. Estrada C, Gomez C, Martin C, Moncada S, Gonzalez C. Nitric oxide mediates tumor necrosis factor- α cytotoxicity in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;186:475-82.

93. Van den Bosch H, Schalkwijk C, Pfeilschifter J, Marki F. The induction of cellular group II phospholipase A2 by cytokines and its prevention by dexamethasone. *Adv Exp Med Biol* 1992;318:1-10.

94. Suffys P, Beyaert R, De Valck D, et al. Tumour-necrosis-factor-mediated cytotoxicity is correlated with phospholipase-A2 activity, but not with arachidonic acid release per se. *Eur J Biochem* 1991;195:465-75.

95. Bauldry SA, McCall CE, Cousart SL, Bass DA. Tumor necrosis factor- α priming of phospholipase A2 activation in human neutrophils. An alternative mechanism of priming. *J Immunol* 1991;146(4):1277-85.

96. Schoenberg MH, Birk D, Beger HG. Oxidative stress in acute and chronic pancreatitis. *Am J Clin Nutr* 1995;62(6 Suppl):1306S-1314S

97. Sweiry JH, Mann GE. Role of oxidative stress in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996;219:10-15

98. Serdar Z, Yeşilbursa D, Dirican M, Sarandöl E, Serdar A. Sialic acid and oxidizability of lipid and proteins and antioxidant status in patients with coronary artery disease. *Cell Biochem Funct* (in press) DOI: 10.1002/cbf

99. Chuang CC, Shieh SC, Chi CH, Tu YF, Hor LI et al. Serum total antioxidant capacity reflects the severity of illness in patients with severe sepsis. *Crit Care* 2006;10(1):R36

100. Pascual C, Karzai W, Meier-Hellman A, Oberhoffer M, Horn A, Bredle D, Reinhart K. Total plasma antioxidant capacity is not always decreased in sepsis. *Crit Care Med* 1998;26:705-709

101. Tsai K, Hsu T, Kong C, Lin K, Lu F. Is the endogenous peroxy-radical scavenging capacity of plasma protective in systemic inflammatory disorders in humans? *Free Radic Biol Med* 2000;28:926-933
102. Guice KS, Oldham KT, Remick DG, Kunkel SL, Ward PA. Anti-tumor necrosis factor antibody augments edema formation in cerulein-induced acute pancreatitis. *J Surg Res* 1991;51(6):495-499
103. Triantafillidis JK, Cheracakis P, Hereti IA, et al. Acute idiopathic pancreatitis complicating active Crohn's disease -Favorable response to infliximab treatment. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:3334-36.
104. Fefferman DS, Alsahli M, Lodhavia PJ, et al. Re: Triantafillidis et al -acute idiopathic pancreatitis complicating active Crohn's disease Favorable response to infliximab treatment. *Am J Gastroenterol.* 2001;96:2510-11.