

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**L-ARGİNİNİN İNDÜKLEDİĞİ DENEYSEL
AKUT PANKREATİTİ ÖNLEMEDE
AMİFOSTİN, BORTEZOMİB, OKTREOTİD,
E VE C VİTAMİNLERİNİN ETKİNLİĞİ**

UZMANLIK TEZİ

DR.ÖZAY AYVAZ

DANIŞMAN

Prof. Dr.Gürhan Kadıköylü

AYDIN-2010

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Proje Fonu'ndan (No: TPS-0900) kısmen desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
I- GİRİŞ ve AMAÇ	4
II- GENEL BİLGİLER	6
III- GEREÇ VE YÖNTEM	27
IV- BULGULAR	33
V - TARTIŞMA	38
VI- ÇIKARIMLAR	49
VII- SONUÇLAR	50
VIII- ÖZET	52
IX-İNGİLİZCE ÖZET	54
X-KAYNAKLAR	56

ÖNSÖZ

İç Hastalıkları uzmanlık tezi çalışmaları süresince çok büyük katkıları ve destekleri olan Prof.Dr.Gürhan KADIKÖYLÜ'ye, ayrıca tüm İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde büyük emekleri bulunan değerli ve saygıdeğer hocalarımdan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr. Ali Önder Karaoğlu olmak üzere, Prof.Dr.A.Zahit BOLAMAN, Prof.Dr.Taşkın ŞENTÜRK, Prof.Dr.Hadi YAŞA, Prof.Dr.Hulki Meltem SÖNMEZ, Prof.Dr.Engin Güney, Doç.Dr.Sabri BARUTCA, Doç.Dr.Harun AKAR, Doç.Dr.Yavuz YENİÇERİOĞLU, Doç.Dr.Vahit YÜKSELEN, Doç.Dr.Nezih MEYDAN, Yrd.Doç.Dr.İrfan YAVAŞOĞLU, Yrd.Doç.Dr.Mediha AYHAN, Yrd.Doç.Dr.Adil COŞKUN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bununla birlikte tez çalışmaları esnasında yardımlarını esirgemeyen öncelikle Veterinerlik Fakültesi Fizyoloji Bölümü'nden Doç.Dr. Muharrem BALKAYA ve Yrd.Doç.Dr. Hümeysra ÜNSAL'a, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd.Doç.Dr. İbrahim METEOĞLU'na, Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof.Dr. Çiğdem YENİSEY'e, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof.Dr. Süleyman DEMİR ve Yrd.Doç.Dr.Hülya AYBEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Özay Ayvaz
Aydın, 2010

1.GİRİŞ VE AMAÇ:

Akut pankreatit, klinik olarak ani başlayan karın ağrısı ile birlikte serumda ve/veya idrarda pankreas sindirim enzimlerinin yükselmesi ve pankreasta radyografik değişikliklerin saptandığı bir hastalıktır. Sıklığı yılda 30-50/100000 olup alkol kullanımı ve safra taşları etiyojisinde sıklıkla yer almaktadır. %25'i şiddetli gidiş gösterirken sepsis ve multi-organ yetersizliği nedeniyle mortalite %30-40'lara kadar çıkabilmektedir (1,2).

Akut pankreatit, etiyojisi ne olursa olsun asiner hücre içinde başlamakta nekroz, ödem, hemoraji ve yağ nekrozu meydana gelmektedir. Akut pankreatitin patogeneğinde başlangıçta en önemli faktör tripsinojenin uyarılması ve tripsine dönüşümüdür. Düşük pH ve kalsiyum salınımı bu uyarıda rol oynamaktadır (1,3). Bunun yanında şiddetli akut pankreatit sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun en önemli nedenlerinden biridir. Klinik olarak ortaya çıkan pankreatit ve deneysel pankreatit modellerinde çeşitli inflamatuvar sitokinler ve nükleer faktör kappa B (NF-κB) rol oynamaktadır. Lokal doku zedelenmesine inflamatuvar yanıt olarak NF-κB, tümör nekroz faktör-α (TNF-α), interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, trombosit aktive edici faktör, monosit kemoatraktan sitokin, hücre içi adezyon molekülleri açığa çıkar ve kompleman aktive olur. Bu inflamatuvar mediatörlerin artışı böbrek ve akciğer gibi diğer organları da etkileyerek multi-organ yetersizliğine de yol açarak mortaliteyi arttırabilmektedir (4-11).

Akut pankreatit patogeneğinde oksidatif stres sonucu lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikalleri de etkili olabilmektedir. Özellikle bu durum akut pankreatitin ilk 6 saatinde gözlenmektedir (12-16). Serbest oksijen radikallerinin deneysel çalışmalarda hem akut pankreatitin başlangıcında hem de nötrofillerin aktivasyonunda ve inflamatuvar yanıtın ortaya çıkışında etkili olduğu saptanmıştır (17,18). Yapılan deneysel pankreatit çalışmalarında lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehid (MDA) düzeyleri artar iken glutatyon (GSH) ve serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimler olan glutatyon peroksidaz (Gpx), katalaz ve süperoksid dismutazın (SOD) azaldığı görülmüştür (19-21).

L-Arginin, serulein ve taurokolat ile oluşturulan deneysel pankreatit çalışmalarında anti-oksidan özellikleri olan asetil sitein, melatonin, selenyum, E ve C vitaminlerinin serbest oksijen radikallerini ve lipid peroksidasyonunu azaltırken koruyucu enzimlerini arttırarak sitoprotektif etkileri saptanmıştır (19,20,22-26). Ancak bu ilaçların insanlarda koruyucu etkileri kanıtlanmamıştır (27). Ksantin oksidaz inhibitörü olan allopürinolün de lipid peroksidasyonunu azaltıcı, sitoprotektif ve anti-oksidan etkileri gösterilmiştir (28).

Somatostatinin sentetik analogu oktreotid deneysel pankreatiti önleyebilmektedir. Etki mekanizmaları pankreatik enzim sekresyonunu azaltması, karaciğer ve retiküloendotelial sistem (RES) aktivitesini arttırması fagositozu stimüle etmesi, sitokin salınımını modüle ederek vazokonstriksiyon ve pankreatik hipoperfüzyonu engellemesidir. Son yıllarda ise epidermal growth factor ve transforming growth factor upregülasyonu ile pankreasta DNA ve protein sentezi ile rejenerasyonu arttırdığı da saptanmıştır. Pankreas dokusunda yapılan histopatolojik incelemede de pankreatit üzerinde olumlu değişiklikler gözlenmiştir (21,29-33). Bir deneysel çalışmada serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunu azaltıp koruyucu enzimleri arttırmıştır (21). Yapılan çeşitli klinik çalışmalarda şiddetli akut pankreatitli hastalarda oktreotid etkili bulunmuştur (33,34).

Bir ön ilaç olan amifostin dokuda membrana bağlı alkalen fosfataz enzimi ile defosforile edilerek farmakolojik olarak aktif ve amifostinin major sitoprotektif metaboliti olan serbest tiyol metaboliti açığa çıkmaktadır (35). Amifostinin diğer metabolitleri simetrik disülfid, sistiamin, L-sistein, L-glutation içeren miks disülfidler ve tiyol içeren proteinlerdir (36). Serbest tiyol içinde bulunduğu dokuyu sitotoksik etkilerinden serbest tiyolin alkilleyici veya platinyum ajanların aktif ürünlerine direk bağlanarak detoksifiye etmesi, serbest oksijen radikallerini temizlemesi ve lipid peroksidasyonunu inhibisyonu ile korumaktadır (36-38). Amifostinin çeşitli antineoplastik ilaçların nefro- ve kardiyotoksitesinden koruması üzerine deneysel ve klinik çalışmalar mevcuttur ancak deneysel akut pankreatitte etkinliğini araştıran bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Proteazom inhibitörleri NF- κ B'yı inhibe ederek inflamatuvar yanıtı azaltmaktadır (39). Akut pankreatitte NF- κ B ve inflamatuvar sitokinlerin rolü bilinmekle birlikte deneysel pankreatitte proteazom inhibitörlerinin etkisini araştıran yalnızca bir çalışma mevcuttur (40). Bu çalışmada kolesistokinin ile oluşturulan deneysel pankreatit modelinde peptid aldehyd proteazom inhibitorü MG132, pankreatik TNF- α , IL-6 ve pancreatitis associated protein düzeylerini, miyeloperoksidaz aktivitesini azaltırken ve SOD düzeylerini arttırdığı saptanmıştır. Bunun yanı sıra her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da NF- κ B düzeylerinde bir azalma ortaya çıkarmıştır. Bortezomib histopatolojik olarak inflamatuvar yanıtı ve doku zararlanmasını da azaltmıştır. Bortezomib selektif ve reverzibl bir proteazom inhibitörüdür. Refrakter ve relaps multiple miyelom tedavisinde etkilidir (41). Bortezomib; IL-1, IL-6, TNF- α , selektinler, ICAM-1, doku faktörü, vascular endotelial growth factor ve NF κ B'yı inhibe ederek anti-inflamatuvar ve anti-anjiogenetik etkinlik meydana getirir

(42,43). Ancak borteomibin deneysel akut pankreatit üzerinde etkinliğini inceleyen bir çalışma literatürde mevcut değildir.

Bu tezde ratlarda, L-Arginin ile oluşturulan akut pankreatit patogenezi serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonu, koruyucu enzimler, sitokinler ve NF- κ B'nin rolü ile amifostin, borteomib, oktreotid, E ve C vitaminlerinin akut pankreatiti önlemedeki rolü araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER:

Akut pankreatit fizyopatolojisi

Akut pankreatitte ödem, enflamasyon ve hücrel ultrastrüktürün disorganizasyonu, nekroz ve apoptozis gibi parankimal hücre yaralanmasının çeşitli formları dahil olmak üzere çeşitli patobiyolojik cevaplar oluşmaktadır.

I.Pankreatik asiner hücrelerdeki olaylar:

a-Sindirici enzim aktivasyonu:

Proenzim tripsinojenin, aktif tripsine dönüştürülmesi gibi sindirici enzimlerin yetersiz intrasellüler proteolitik aktivasyonunun pankreatit başlangıcından sorumlu olan major bir patolojik olay olduğu düşünülmektedir. Yakın zamandaki çalışmalar aktivasyon sürecinin düşük pH üretimini sağlamak için kompartmanda asidifiye nonzimojen granül veziküler kompartman gerektirdiğini göstermektedir (44). Zimojen granüllerinin yerleşim gösterdiği asiner hücrenin apikal polündeki ryanodin-sensitif kalsiyum depolarından salınan kalsiyumun, tripsin aktivasyonuna aracılık ettiği saptanmıştır(45). İntrasellüler sindirici enzim aktivasyonunun zimojen granülü gibi hücrel organelde gerçekleştiği, aktivasyonun kinazlar ve ATP'ye hem bağımlı hem de bağımsız sinyalizasyon paternleri ile oluştuğu görülmüştür. Altta yatan aktivasyonun mekanizması da farklı sindirici enzimler için aynı olmamaktadır (46).

b- Endoplazmik retikulum stresi:

Endoplazmik retikulum (ER) stresleri; kalsiyum içeriğindeki değişimler ve oksidatif olaylar gibi faktörleri kapsamaktadır. Bu stresler ER'da, proteinlerin değişmiş katlanması ile sonuçlanabilir. Pankreatik asiner hücrenin ER'unda yüksek oranda protein sentezinin pankreatitte oluşan bilinen oksidatif stresler ile kombinasyonu nedeniyle, ER stres cevabı pankreatit patobiyolojisine temel katkıda bulunan bir olaydır. Değişime uğrayan protein katlanması, rezidan proteinlerin agregasyonu ve ER dışına transport inhibisyonu gibi bozukluklara yol açmaktadır. Değişime uğrayan protein katlanması hem protektif hem de

patobiyolojik cevaplara yol açan sinyallerin aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. Protaktif cevaplar daha ileri protein sentezinin inhibisyonunu, yanlış katlanmış proteinlerin yıkımını ve ER’da normal protein katlanma kapasitesinin artmasını kapsamaktadır. Patolojik cevaplar inflamasyonu ve hücre ölümünü kapsamaktadır (47,48).

c- İnflamatuvar yanıt:

Parankimal zararlanmaya neden olan inflamatuvar yanıt akut pankreatit patogenezinde önemlidir. Nötrofil eksikliği hem tripsin aktivasyonunun azalması hem de nekroza apoptozise hücre ölümünün azalmasına ve pankreatitin iyileşmesine neden olmuştur (49,50). Hastalığın şiddetini arttırmada nötrofil oksijen üreten sistemi olan NADPH oksidazın ve nötrofil elastazın rolü vardır (51). Nötrofil elastaz inhibitörlerinin ve nötrofil migrasyonunu ve/veya pankreasdaki aktivasyonu değiştiren diğer yaklaşımların akut pankreatit tedavisinde önem taşıyabilecektir. N-asetilsistein, askorbik asid ve melatonin, alfa-lipoik asid, trans-resveratrol ve thioredoxin-1 gibi kısmen antioksidan etkili ajanların inflamasyonda ve pankreatitin şiddetinde yararlı etkileri görülmüştür (52).

d- Hücre ölümü yanıtları ve intrasellüler kalsiyum:

Hayvan modellerindeki çalışmalar pankreatit şiddetinin nekroz miktarı ile direkt ve apoptozla da ters ilişkili olduğunu göstermektedir (53). Bir çalışmada pankreasda apoptozun endojen inhibitörlerinin (IAPs) bir kısmının kaspaz aktivitesinin inhibisyonu ile apoptozun inhibe edildiği saptanmıştır. Pankreastaki parankimal hücrelerin pankreatite neden olan bir stresle nekroza uğraması olasıdır. Bunun yanında IAPs inhibisyonu sonucu kaspaz aktivasyonu, apoptoz ve pankreatitte iyileşme ile sonuçlanmaktadır (54).

Alkolik pankreatit mekanizmasında apoptoz ve nekroz arasındaki etkileşim önemlidir. Sıçanlara alkol verilmesi kaspazların azalmış ekspresyonu ve aktivitesi ile sonuçlanmış ve bu da pankreası endotoksin tedavi ile nekrotizan pankreatit gelişimi açısından daha hassas hale getirmiştir. Bir çalışmada nonoksidatif etanol metanol metabolitlerinin, yağlı asit etil esterlerinin ER üzerinde ryanodin reseptörleri ile etkileşip intrasellüler ER depolarından kalsiyum salınımı ile pankreatik asit hücrelerin nekrozuna neden olduğu belirtilmiştir (55). Aşırı kalsiyum salınımı nekroza neden olan mitokondriyal toksisite ve azalmış ATP üretimine neden olmaktadır. Önemli bir nokta da böyle bir stimülasyonda hücrede apoptozun gerçekleşmeyeceğidir. Çünkü kaspaz aktivasyonu için ATP gerekmektedir (56).

Apoptoz ve nekroz yollarının düzenlenmesiyle ilişkili bulguları sunan başka bir yazı poliaminlerin (spermin, spermidin ve putresin) insan pankreasında ve pankreatitin

deneysel hayvan modellerinde eksik olduğunu göstermiştir (57). Bundan başka, metilspermidin ile eksik poliamin havuzlarının desteklenmesi sıçanlardaki arjinin-indüklü pankreatit modelinde azalmış pankreatik hasar ile sonuçlanmıştır, fakat bu durum serulein modelinde görülmemiştir. Ek olarak, metilspermidin, arjinin pankreatitinden dolayı gelişen mortaliteden sıçanları korumuştur. Poliamin etkilerinin altında yatan mekanizma bu yazıda belirlenmemiş olmasına rağmen, diğer dokularda poliaminlerin apoptozun artırılmasında görev aldığı ile ilgili ortaya çıkan kanıtlar mevcuttur. Bu etki nekrozu apoptoza çevirerek pankreatiti iyileştirebilir (58,59).

II. Pankreatik vasküler yanıtlar:

Pankreas içerisindeki dokunun iskemisinin, pankreatit mekanizmasına katıldığı ile ilgili fikir birliği olmasına rağmen, vasküler değişikliklerin tarifi ve bu tür değişikliklerin düzenlenmesi tam olarak anlaşılabilir değildir. Akut nekrotizan pankreatitin erken evrelerindeki vasküler değişiklikleri bildiren uzun süreli (1988-2003), yakın zamanda yayınlanan bir çalışma, şiddetli ve nekrotizan cevaba aracılık eden vasküler değişiklikleri daha iyi anlamamıza neden olmuştur (60). Bu çalışmada araştırmacılar nekrotizan pankreatitin seyri sırasında, perfüzyon anormallikleri ile birlikte anjiyografik anormallikleri kontrastlı bilgisayarlı tomografi (BT) ile kıyaslamışlardır. Çalışma, alkol (52 hasta), safra taşı (19 hasta), endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP) (5 hasta) ve diğerlerini (26 hasta) içeren çeşitli yaygın sebepleri olan 102 hastayı kapsamaktaydı. Dikkat çekici olan bulgu, yüksek vazospazm (hem intrapancreatik ve hem de ekstrapancreatik) insidansı idi. Anjiyografi ve BT arasındaki korelasyon, pankreas damar yatağındaki küçük ve orta kalınlıktaki damarlardaki, azalmış perfüzyona yol açan vazospazmı göstermiştir. Ayrıca azalmış perfüzyonun olduğu bu alanlarda nekroza neden olmuştur ki bu hastaların %50 kadarına uygulanan sonraki BT değerlendirmeleriyle gösterilmiştir. Daha da önemlisi mortalite, ilk değerlendirmede ölçülen vazospazmın şiddeti ile doğrudan ilişkiliydi. Bu çalışma iskemisinin indüklediği nekrozu anlamak için kan akımının regülasyonuna dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir. Yakın zamanlarda yayınlanan bir yazı bu konuya dikkat çekmiştir (61). Konuyla ilişkili olan bulgular; nitrik oksit sentetazın (NOS) izoformlarından birisi olan endotelial eNOS'un deneysel pankreatit modelinde aktive olması ve bu eNOS aktivasyonunun pankreasta artmış kan akımına neden olmasıdır. eNOS aktivasyonu olmadığında artmış kan akımı kesilir ve pankreatitin şiddeti kötüleşir.

Patogenez:

Akut pankreatit patogenezinden sorumlu çeşitli teoriler sunulmuştur. Bunlar:

1-Obstrüksiyon-sekresyon teorisi: Duktal basınç artışı ve buna bağlı duktal yırtılma neticesinde pankreatik enzimlerin parankime sızması ile olmaktadır.

2-Ortak kanal teorisi: Safra reflüsü ile safranin içerdiği lesitin ve safra tuzları pankreatik kanal mukozal bariyerini bozmaktadır. Bu nedenle hem pankreatik enzimler aktive olur hem de pankreatik kanalın epitelyum geçirgenliği artar.

3-Duodenal reflü teorisi: Duodenal içeriğin ampulla Vateride reflüsü ile enterokinaz pankreatik kanala geçmektedir. Enterokinaz tarafından aktif hale geçen pankreatik enzimler pankreatite neden olabilir.

4-Pankreatik kanal geçirgenliğinin artması: Akut alkol alımı, akut hiperkalsemi, pankreatik kanalın dekonjuge safra asitleri ile teması gibi nedenler sonucunda pankreatik kanal geçirgenliği artmaktadır.

5-Enzim otoaktivasyonu: Mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Daha önce sunulan etyolojik nedenler ile hücre metabolizması düzeyinde meydana gelen zimojenlerin uygunsuz aktivasyonu ile pankreas asiner hücrelerinde hasar meydana getirirler. Tripsin, tripsinojenden intraasiner seviyede aktifleşerek pankreatit patogenezinde pek çok olayın başlamasına yol açar ve basit interstisyel ödemden şiddetli nekroz, multiorgan yetmezliği ile şoka kadar değişen tablo meydana gelebilir (62,63) Kallikrein-bradikinin sisteminin aktif hale geçmesi sonucu damar geçirgenliğinde artış, vazodilatasyon ve lökosit toplanması oluşur. Bu vazoaktif peptidlerin dolaşımında artması sonucu hipotansiyon ve şok meydana gelir. Yine tripsinin aktifleştirdiği proteolitik enzim olan elastaz kan damarlarındaki elastik lifleri parçalayarak kanama ve ödeme neden olur. Fosfolipaz A'nın aktifleşmesi hücre duvarlarını tahrip ederek pankreas parankiminde nekroza neden olur. Dolaşıma karışan fosfolipaz A ve toksik etkili çeşitli hücre zarı lizolesitinleri, akciğerlerde surfaktan hasarı oluşturarak, pankreatit olgularında Adult Respiratuar Distres Sendromu'na (ARDS) yol açar (63,64).

Laboratuvar:

a.Biyokimyasal belirteçler:

Serum amilaz değerleri akut atağın başlaması ile birlikte ilk 6 saat içinde normalin yaklaşık 2,5 katına yukselir ve birkaç gün yukselir. 1000 IU/dl'nin üzeri serum amilaz değeri biliyer pankreatit için önemli bir bulgudur. Bu değerin daha altında ise akut alkolik pankreatit akla gelir. Etiyolojinin hiperlipidemi olduğu pankreatit tablosunda ise amilaz değeri normal olabilir. Pankreatik inflamasyonun başlamasından kısa süre sonra idrar amilaz klerensi yukselir ve bu nedenle serum amilaz konsantrasyonu normale geriler. Bunun için amilaz düzeyi bazen normal olarak ölçülebilir. Bu durumda idrar amilaz düzeyi ölçmek daha yararlıdır. İdrarla günlük 5000 IU üzerinde amilaz düzeyi pankreatit için karar verdirir. Yine kronik pankreatit olgularında önemli oranda parankim fibrozisine bağlı amilaz salınım yetersizliği olacağından serum amilaz düzeyleri akut atak sırasında normal olarak ölçülebilir. Bunların yanında yukselmiş amilaz düzeyi pankreatit düşünülen durumlarda önemli bir bulgu olsa da spesifik değildir. Akut pankreatit olgularında amilazın renal klerensi önemli oranda artmaktadır. Serum amilaz düzeyi ile pankreatit şiddeti arasında bir korelasyon yoktur (41). Serum amilazının pankreas (P-tipi) ve tükrük bezi (S-tipi) kaynaklı olmak üzere iki tip izoenzimi vardır. Pankreatik izoamilazı akut veya kronik pankreatit, pankreasın psödokist veya apsesi, pankreatik asit, pankreas tümörleri, pankreas travması, ERCP sonrası, koledokolitiazis, duodenum ülser perforasyonu, mezenter arter oklüzyonu, ileus, akut veya kronik böbrek yetmezliğinde yuksel saptanabilir. Tükrük izoamilazı kabakulak, sialadenit gibi tükrük bezi kökenli enfeksiyon, alkolizm, radyasyon, over kaynaklı tümör veya kistler, dış gebelik rüptürü, prostat tümörleri, akciğer kanseri, diabetik ketoasidoz, akrep sokması, makroamilazemi, intrakranial hemoraji, HIV enfeksiyonunda yuksel saptanabilir. S- tipi amilaz 55.000 Da büyüklüğünde makromoleküldür. S- tipi amilazın yukseldiği durumlarda molekül büyüklüğü nedeni ile glomerüler filtrasyona geçemeyeceği için serum düzeyi yukselir iken, idrarda düşük kalacaktır. Bunun yanında serum amilaz düzeyi yuksel ancak pankreatit ile uyumlu klinik tablo yok ise, serum elektroforezi ile enzim tipine bakılabilir. Rutin kullanılan laboratuvar yöntemlerinde her iki tip amilaz birlikte ölçülmektedir.

Lipaz sadece pankreatik kaynaklı olduğundan, akut pankreatit tanısında daha güvenilir görünmektedir. Ancak lm zaman aldığından ve her yerde ölçüm olanağı olmaması nedeni ile rutin laboratuvar tetkiki olarak sık kullanılmamaktadır. Ayrıca kronik böbrek yetmezliği, duodenum ülseri, barsak perforasyonu, mezenter enfarktüsü, ileus gibi hiperamilazemi yapabilen bazı patolojilerde, hiperlipazemi de bulunabilir. Lipaz akut pankreatitin başlangıcından 2-3 gün sonra yukselir, bu da gecikmiş olgularda tanısal değer taşır (61).

Başka laboratuvar bulguları da akut pankreatite eşlik edebilir. Lökositoz, hiperglisemi ve karaciğer fonksiyon testlerinde artış görülebilir. Yapılan bir çalışmada serum alanin transaminaz düzeyinin 150 IU/l'nin üzerinde olmasının, %96 oranında biliyer pankreatit ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Ayrıca elastaz, immünoreaktif tripsin, fosfolipaz A, C-reaktif protein (CRP) ve pankreatikspesifik protein gibi serum belirleyicileri de yüksek düzeyde saptanabilir. Bunlara ilave olarak serum kalsiyum düzeyinde, serum albumini ile eşzamanlı düşme gözlenir, ancak iyonize kalsiyum düzeyi çoğunlukla normaldir (62,63).

b. İnflamatuar süreç şiddetinin belirteçleri:

CRP; bir akut faz reaktanıdır ve dolaşımdaki IL-1 ve IL-6'ya cevap olarak hepatositler tarafından sentez edilmektedir. CRP akut pankreatit şiddeti için günümüzde kullanılan en popüler ve en geniş elde edilebilirliğe sahip belirteçtir (65). Bu APACHE II skorundakine benzer doğruluğa sahip olmak üzere semptomların başlangıcından 48 saat sonra hastalık şiddetinin kullanışlı bir belirteci olarak görünmektedir (61). Hafif ve şiddetli hastalığı adlandırmak için gerekli cutt-off düzeylerinin 120 ve 210 mg/l arasında değişir (63,67,68). Bununla birlikte kabuldeki düzeyler hastalık şiddetinin kötü bir belirteçtir, çünkü artmış CRP düzeyleri dolaşımdaki sitokinlere sekonder olarak hepatik senteze bağımlıdır (52).

IL-6; fibrinojen, serum amiloid A ve CRP gibi akut-faz proteinlerinin sentezinin temel bir sitokin mediyatörüdür. Bu radyoimmünassay kullanılarak serum ve idrarda ölçülebilir (63). Serumdaki IL-6 düzeylerinin kabulden sonraki 24 saat içerisinde akut pankreatitin hafif ve şiddetli atakları arasındaki ayrımı yaptığı rapor edilmiştir. Serum ve idrar düzeyleri ilk 48 saat içerisinde pik yapar ve pankreatik nekroz, pankreatik abse veya enfekte nekroz gelişmediği takdirde hızlıca azalır. Hafif hastalığa sahip olan hastalarda belirlenemeyen düzeyde serum IL-6 düzeyleri vardır ve bunun serum düzeylerinin kısmen yüksek derecede doğrulukla akut pankreatit atağının şiddetini yansıttığı gösterilmiştir (63,69,70). Rutin klinik kullanım için uygun veya hasta başı değerlendirme için uygun ölçütler henüz mevcut değildir.

Ağırlıklı olarak makrofaj-derive bir sitokin olan TNF- α 'nın yaralanma ve sepsise karşı fizyopatolojik cevapların çoğuna aracılık etmede temel bir rol oynar (63,71). Serum TNF- α düzeyleri ve akut pankreatit şiddeti arasında bazı ilişkiler mevcuttur (71). Bununla birlikte akut pankreatit şiddetini tahmin etmede TNF- α değeri herhangi bir geniş ölçekli karşılaştırmalı çalışmalarla değerlendirilmemiştir.

IL-8; TNF- α uyarımlı nötrofil aktivasyonunun başlıca sekonder mediyatörüdür (71). Çeşitli çalışmalarda bunun akut pankreatit seyrinde yükseldiği gösterilmiştir (70-73) ve klinik

sonuçla ilişkili olduğu da gösterilmiştir. Mentula ve ark. (74) akut pankreatitli hastalarda organ yetmezliği gelişmesini tahminde 19 prognostik değişkenin değerini incelemişlerdir. Serum kalsiyum ve IL-10 düzeylerine dayanan son prognostik modelin daha kompleks prediktif modellerle mukayese edilebilir olduğu ve organ yetmezliği gelişimini tahmin etmede APACHE II skorlarından daha fazla doğruluğa sahip olduğu bildirilmiştir.

Aktif hormon kalsitoninin inaktif propeptidi olan prokalsitoninin (PCT) tüm etyolojilere bağlı akut pankreatitli hastalarda değişen derecelerde başarı oranına sahip olmak kaydıyla şiddet ve sonuç tahmininde potansiyel bir belirteç olarak değerlendirilmiştir (75,76). Çeşitli çalışmalar başlangıçtaki serum PCT değerlerinin CRP ve APACHE II skorları gibi diğer prediktif belirteçlere göre akut pankreatitte olası şiddetin daha doğru bir endikatörü olduğuna işaret etmektedir (77-80).

c.Pankreatik enzim sızmasının belirteçleri:

Akut pankreatit tanısı koymak için yıllardır serum amilaz ve lipaz düzeylerinin kullanılmasına rağmen, bu enzimlerin hiçbirisinin serum düzeyi hastalığın şiddeti ile bir ilişki göstermemiştir (81).

Tripsin proenzin tripsinojen olarak sekrete edilen proteolitik bir enzimdir. Bunun prematür aktivasyonunun akut pankreatit patogenezinde temel bir olay olduğu düşünülmektedir (81). İzoenzim tripsinojen 2'nin (anyonik tripsinojen) tripsinojen 1'e (katyonik tripsinojen) kıyasla akut pankreatitli hastaların serumunda ve idrarında arttığı bilinmektedir. Bundan başka, üriner tripsinojen 2 düzeyleri şiddetli düzeye ilerleme gösteren hastalarda önemli ölçüde daha yüksek olarak görünmektedir (82). Bununla birlikte hafif ve şiddetli hastalık arasında serum tripsinojen 2 düzeylerinde önemli oranda örtüşme mevcuttur. Sonuç olarak, tripsinojen 2 düzeyleri hastalık şiddetini tahmininden ziyade akut pankreatitte tanısasal bir araç olarak daha fazla değere sahiptir (82).

Akut pankreatit hayvan modelleri

A)Non-invaziv modeller

1-Hormon uyarımlı model: Bir decapeptid olan cerulein Hyla caerulea isimli bir amfibinin (Avustralya kurbağası) derisinden izole edilmiştir. Kolesistokinin-pankrezozimin analogu olan cerulein ilk defa 1977 yılında Lampel ve Kern tarafından ratlarda deneysel olarak akut intersisyel pankreatit oluşturmak için kullanılmıştır. Cerulein intravenöz, subkutan ve intraperitoneal olarak kullanılabilir. Ratlarda hem intravenöz bolus enjeksiyonu olarak hem de intravenöz infüzyon şeklinde verildiğinde pankreas dokusundaki kolesistokininin (CCK)

reseptörlerini uyararak birkaç saat içinde pankreasta ödem, histolojik olarak asiner hücrelerin vakuolizasyon ve lökosit infiltrasyonu ve serum amilaz düzeyinde artma ile seyreden ödematöz pankreatit yaptığı bir çok çalışmada gösterilmişse de, yaygın nekrozla giden pankreatite de yol açabilir (83-86).

2-Alkol uyarımlı model: Pankreas üzerine etanolün akut etkileri alkol-uyarımlı akut pankreatite neden olan altta yatan fizyopatolojik mekanizmaları araştırmak için çeşitli hayvan deneylerinde araştırılmıştır. Tek başına akut etanol uygulanması ile uyarılan akut pankreatitin hayvan modellerini oluşturmak zordur (87,88) ve önemli pankreatik hasarın oluşumuna olanak sağlamak için öncesinde diğer ajanlarla (89-92) sensitizasyona gereksinim göstermektedir. Bunun nedeni konsantrasyon ve basınçla ilişkili herhangi bir ajanın yüklenmesi pankreatik yaralanma ile sonuçlanabilmesidir. Akut etanol uygulanması fizyopatolojik olayları çalışmak için diğer maddelerle kombine edilmiştir. Bu modeller pankreatik kan akımı ve mikrosirkülasyon, alkol-ilişkili serbest oksijen radikali üretimiyle pankreatik asiner hasar üzerine etki, pankreatik rejenerasyon üzerine metabolitler ve etki gibi spesifik alkol-uyarımlı etkileri araştırmak için özellikle kullanışlı olduğu kanıtlanmıştır.

Etanolün uygulanma yolları intravenöz, oral ve direkt intragastrik yüklenmedir. Akut pankreatit morfolojisi hayvan modeline etanol uygulanım dozuna ve presensitasyon için kullanılan ajanlara bağlıdır. Etanolün intrapancreatik sindirici enzim aktivasyonu ya da direkt patolojik situmulusa karşı asiner hücreleri duyarlılaştırarak (93) ya da duodenal I hücrelerinden bir sekretogog olan CCK (kolesistokinin), salınımını stimüle ederek (94) akut pankreatiti başlangıcına yol açabileceği yakın zamanda ortaya konmuştur. Pankreatit başlangıcında çeşitli sindirim enzimlerinin kesin rolü halen tartışmalı olmakla birlikte etanolün direkt olarak sindirici zimojen aktivasyonunda görev alan süreçlerle direkt olarak ilişkili olabileceği ortaya konmuştur (95).

Mevcut olan alkol-uyarımlı modeller kısmen basittir ve bunların uygulanması ucuzdur. Akut etanol alımı selektif olarak pankreatik kan akımını ve mikrosirkülasyonu azaltır, bu durum alkolün etkisinin altta yatan kronik hastalıkla birlikte veya birlikte olmadan akut pankreatitin gelişimi esnasında iskemi hasarını artırabileceğini düşündürmektedir. Bu modelin başka bir avantajı alkolün toksik etanol metabolitlerinin etkisi ile ve olasılıkla da pankreatik rejenerasyonu sınırlandırarak pankreasa direkt olarak hasar verebilmesidir.

3-Gen knockout modelleri: Bu modeller, spesifik genlerin nasıl akut pankreatiti düzenlendiğini daha ileri düzeyde anlayabilmek için geliştirilmiştir. Metod ilgili spesifik

genin çok dikkatli bir şekilde alınması, bunun inaktif, değişmiş veya ilişkisiz mutant bir genle değiştirilmesini gerektirmektedir. Gen knockout modeller, sitokin ve kemokin mediyatörlerinin etkilerini ve aynı zamanda pankreas ve uzak organlarda bunların reseptörlerini incelemek için kullanılabilir. Tek bir genin delesyonunun veya değişiminin pankreas veya uzak organdaki yaralanmayı tamamen önlemeyeceği gösterilmiştir. Bu durum sitokin ve kemokin ailelerinin karakteristik özelliği olan ligandların ve reseptörlerinin çok sayıda olduğuna işaret etmektedir. Gen knockout modeller interlekin (IL)-1 ve tümör nekrozis faktör -alfa, IL-6, IL-10, kemoatraktan sitokin reseptörü-1 (96), nörokinin-1 reseptör (97,98), intersellüler adezyon molekülü -1 (ICAM-1) (99), metalotionin- 1(100), katepsin B(101), fare a2-makroglobulin ve murinoglobulin (102), kompleman faktör C5a (103), granülosit-makrofaj koloni-stimulan faktör ve fosfolipaz A2 (104) gibi çeşitli spesifik hedef genlerin fonksiyonunu belirlemek için kullanılmıştır. Knockout modellerin avantajı ilgili spesifik genin delesyonu ile fonksiyonunun veya etkisinin ortaya konulabilmesidir. Bundan başka sıklıkla yan ekilere neden olan farmakolojik işlemlerden sakınılabılır. Bu durum spesifik bir sitokin etkilerinin araştırılmasına olanak sağlar. Genel olarak gen knockout modelleri zaman harcıyıcı, pahalı ve gerçekleştirilmesi kompleks yöntemlerdir. Bunun başka bir dezavantajı ise konsepsiyon zamanından itibaren spesifik bir genin alterasyonunun yani diğer protein ekspresyonlarının mutasyon kompensasyonu ile sonuçlanabilmesidir. Ek olarak eğer bir gen farklı dokularda ekprese edilirse mutasyon beklenmedik fenotipik değişimleri stimüle edebilir. Diğer taraftan iki genin ekspresyonu örtüşebilir ve tek bir gendeki alterasyon anormal fenotipi maskeleyebilir. Gen knockout modellerinden elde edilen deneysel verinin insanlara göre değerlendirilmesi bu nedenlerle zordur.

4-İmmün aracılıklı modeller: Akut pankreatitin immün aracılıklı modelleri hem invaziv hem de non-invaziv yollarla meydana getirilebilir. Genellikle çeşitli ajanların pankreatik intraduktal infüzyonu ile gerçekleştirilir. İlk olarak Thal ve Brackney (105) keçilerin ve tavşanların pankreatik kanalına Escherichia coli ve meningokok bakteriyel toksini infüze ederek immünolojik olarak indüklenmiş akut pankreatit modeli tanımlamışlardır. Bu, pankreasta lokal Shwartzman reaksiyonu oluşturmuştur. Akut hemorajik ve nekrotizan pankreatite yol açan aynı toksini 24 saat sonra verilmiştir. Hayvanların hiçbiri ikinci doz sonrası 4-24 saatten fazla yaşamamıştır (106). Başka bir çalışmada Thal (107) ovalbuminin subkütan veya intravenöz uygulanımı ile sensitize ettiği tavşanlarda Arthus fenomeni ile birliktelik gösteren akut pankreatitin diğer çeşitlerini bildirmiştir. Pankreatit derecesi akut

non-fatal interstisyel pankreatitten şiddetli pankreatik nekroza kadar değişiklik göstermiştir. Thal (108) deneysel akut pankreatitin her iki tipinin de insanlarda görülen interstisyel ve nekrotik formlara benzediğini gözlemlemiştir. Bu modellerin morfolojik çalışmaları Shwartzman ve Arthus reaksiyonlarının her ikisinde de uyarılan vasküler faktörlerin deneysel akut pankreatitin bu modelinin fizyopatolojik yolaklarında major bir rol oynadığını düşündürmüştür.

Aynı zamanda akut pankreatit farelerde yabancı serumun intraperitoneal enjeksiyonu ile de uyarılmıştır. Bu model asiner hücre nekrozu, yağ nekrozu, hiperamilazemi ve enflamatuvar cevap sendromları ile karakterizedir (109,110).

Nevalainen ve ark. (111) sıçana intraperitoneal olarak veya pankreatik kanala taze tavşan serumu enjekte ederek başka bir akut nekrotizan pankreatit modeli tanımlamıştır. Osmotik hasarla sonuçlanan erken membran bozulmasının özellikleri, ölüm ve asiner hücrelerin nekrozu şeklinde gözlenmiştir.

İmmünolojik tabanlı modellerde sıçanlara anti-asiner hücre antiserumunun intraduktal verilir. Bu da uyarımın 16 saati içerisinde şiddetli nekroza neden olan progresif enflamatuvar sürece yol açar (111).

Aynı zamanda farelerin MRL/MP türünde otoimmün akut pankreatitin spontan bir modeli de tanımlanmıştır (112). Histolojik özellikler şiddetli enflamatuvar değişimleri ve yoğun asiner doku nekrozunu içermektedir. Buna özellikle CD4+ hücreler olmak üzere hücrenel otoimmün mekanizmalar aracılık eder (113).

5-Diyet uyarımlı modeller

Lombardi ve ark. (114) genç dişi fareleri etiyonin içeren kolin eksik diyetle (CDE diyeti) besleyerek şiddetli akut nekrotizan pankreatiti oluşturan diyet uyarımlı bir akut pankreatit modeli geliştirmişlerdir. Kolin eksikliği ve etiyonin uygulananının sinerjistik etkisi istenen mortalite oranlarına ulaşmak için manipüle edilebilir. Kolin-yeterli diyet ve %0.5'lik etiyonin ile beslenen hayvanlarda mortalite oranı %10'a ulaşmaktadır. Etiyoninsiz kolin eksik diyet ne mortaliteye ne de akut pankreatite neden olmaktadır (115).

Lombardi ve ark. (114), Gilliland ve Steer'in (115) ortaya koyduğu beslenme protololünü modifiye etmek diyet uyarımlı akut pankreatitin şiddetini azaltabilir. CDE diyeti, miktar (fare başına 3 g) ve süre (24 saat) olarak azaltılmıştır. CDE diyeti ile besleme 24 saat açlıktan önce ve sonra gerçekleştirilmiştir. Bu modifikasyonla mortalite oranı %50 ve %60 olarak sonuçlanmıştır.

CDE diyetinden önce uygulanan glukagonun akut pankreatitin mortalite oranını ve şiddetini azalttığı görülmüştür. Aynı zamanda pankreatik polipeptitte akut pankreatitin mortalite oranını ve şiddetini azaltmıştır. Bu nedenle bu model akut pankreatitin şiddetinin derecelendirilmesine ve terapötik çalışmalar veya hücre biyolojik çalışmaları için mortalitenin derecelendirilmesine olanak sağlamaktadır.

Diyet uyarımlı modelin avantajı akut hemorajik pankreatit gerçekleştirilmesi en kolay sistem olmasıdır. Aynı zamanda ucuzdur, yüksek oranda tekrarlanabilirliğe sahiptir ve cerrahi prosedüre gerek göstermez. Bu yöntemde beslenme periyodu kesilerek mortalite oranı % 0-100 arasındaki düzeyde kontrol edilebilir (116). Bunun yanı sıra hem türe (sadece farelerde kullanılabilir) hem de cinsiyet spesifiktir. Karşıt olarak erkek fareler DL etiyonin içeren kolin eksik diyetle akut hemorajik pankreatit indüksiyonuna dirençlidir (117). Ağırlığı 20 g'dan fazla olan erkek fareler çok daha düşük mortalite oranı ile birlikte daha az şiddetli akut pankreatit geliştirirler. Östrojen eklenmesi erkek farelerin akut pankreatit yatkınlığını artırır (118). Akut pankreatit başlangıcı değişkendir ve CDE diyetinin alımının farklı deneysel guruplarda aynı olduğundan emin olmak için dikkatli monitorizasyon gereklidir (110,112).

6-L-Arginin modeli: Bu non-invaziv akut pankreatit sıçan modeli Mizunuma ve ark. (119) tarafından geliştirilmiştir Bu modelde yüksek dozda L-Arginin (Arginin) verilerek akut nekrotizan pankreatit oluşturulur. Mortalite oranı %2.5'dir (119-121). Arginin'nin akut pankreatite yol açma mekanizması henüz bilinmemektedir.

Oksijen serbest radikalleri, nitrik oksit ve inflamatuvar mediyatörlerin (122-126) pankreatit gelişiminde rol oynadığı ileri sürülmüştür. Hegyi ve ark. (119) 24 saat içerisinde Arginin sonrasında pankreasın ağırlığının neredeyse iki katına çıktığını saptamışlardır. Elektron mikroskopu altında Kishino ve ark. (128) pankreatik asiner hücrelerde kaba endoplazmik retikulumun bozulmasıyla başlayan dejenerasyon gözlemişlerdir. Endoplazmik retikulum başlangıçtaki distansiyonunu bozulmuş kaba endoplazmik retikulum ve yıkılmış zimojen granülleri, lökosit ve fibroblast infiltrasyonu sonucu asiner hücrelerin nekrozu izler.

Tek Arginin enjeksiyon modeli değişken sonuçlarla modifiye edilmiştir. 500 mg/100 g vücut ağırlığı'ndan yüksek Arginin dozları birkaç saat içerisinde ölümü meydana getirebilir. Tekrarlanan dozlar asiner hücre nekroz oranını artırabilir. Tek bir doz 500 mg/100 g vücut ağırlığı dozu 3 gün içerisinde pankreatik asiner hücrelerin %70-80'inde nekroza neden olur, 10 gün içerisinde 3 ekstra dozla bu oran %90'a kadar çıkar (127). Daha uzun bir dönemde

azalmış dozlar da aynı zamanda akut pankreatitin başlangıç zamanını uzatmak için kullanılabilir.

Hegy ve ark. (119) sıçanlarda Arginin indüklediği modelin erken ve geç fazlarını karakterize etmişlerdir. Akut pankreatitin erken fazı lökositlerin intersellüler infiltrasyonu, kapiller dilatasyon ve mikrofokal parenkim nekrozu ile birlikte akut pankreatik enflamasyon ile karakterizedir. Langerhans adacıklarını çevreleyen asiner hücreler korunmuş olarak kalmıştır. İlk haftanın sonunda belirgin adipoz doku depolanması görülmüştür. Adipoz doku çoğalması etkilenmiş alanlarda atrofinin bir endikasyonudur ve etkilenmemiş alanlarda hipertrofi ve hiperplaziyi yansıtabilir. Akut pankreatit uyarımını takiben 1 ila 5. günler arasında sıçan ölümleri görülmüştür ancak kontrol guruplarında mortalite görülmemiştir.

Arginin uyarımlı modelin avantajları tekrarlanabilirliği ve selektif doz-bağımlı pankreatik asiner hücre nekrozu yapabilmesidir. Arginin'nin etkilerinin doz ve zaman bağımlılığı nedeniyle bu model akut pankreatitin erken ve geç fazlarını araştırmak için çok kullanışlıdır. Daha küçük dozlardaki Arginin'nin akut pankreatitin rejeneratif sürecini karakterize etmekte elverişlidir. Bununla birlikte Arginin'nin yüksek dozda uzun-dönemli uygulanması kronik pankreatite neden olur (129,130). Bu model aynı zamanda insülo-asiner aksını değerlendirmede kullanışlıdır. Klinik bir durumda dolaşımsal, pulmoner, renal ve hepatik gibi çoklu organ yetmezliği akut pankreatitin mortalitesini ve morbiditesini önemli ölçüde etkilemektedir (131). Bu nedenle bu model ekstra-pankreatik organ hasarını ve bunun mekanizmalarını araştırmak içinde uygun olabilir.

B)İnvaziv modeller

1-Kapalı Duodenal Loop Tekniği: Duodenumun, pankreatit kanalının açıldığı kısmının distal ve proksimalinin bağlanması şeklinde uygulanır. Aktif pankreas enzimleri içeren duodenal salgının, intraduodenal basınç artışıyla pankreatik kanala reflü olmasıyla pankreatit oluşturulur (132).

2-Biliopankreatik kanal injeksiyon modeli: Duodenotomiyi takiben, pankreas kanalına safra tuzlarının retrograd injeksiyonu ağır akut pankreatit oluşmasına sebep olur. Bu modelde pankreas kanalı duodenum duvarı üzerinden kanüle edilir, safra kanalı karaciğer hilusuna yakın yerden geçici olarak kapatılır ve pankreas kanalına yabancı madde retrograd olarak yavaşca verilir. Hastalığın şiddeti, kullanılan safra tuzlarının konsantrasyonu veya uygulanan basınç değişiklikleriyle ayarlanabilir (133,134).

3-Arteriyel obstrüksiyon ve iskemi: İskemi, akut pankreatiti başlatmak veya şiddetini artırmak için kullanılabilir. Bunun için gastroduodenal arter, gastrik arter, sol splenik arter ve pankreaticaduodenal kaudal arterin mikrovasküler klipsler ile bağlanması gerekir. Reperfüzyon hasarı için klipslerin 30.dk, 1. ve 2.saatlerde açılması gerekir (135). Köpekte mikron çaplı polietilen mikro küreler kullanılmış ve bu yöntemle 11. saatte hemorajik nekroz oluşmuştur (136).

Akut pankreatit tedavisi ve korunma:

Erken dönem akut pankreatitte tedavi seçenekleri:

1-Zararlı etkeninin ortadan kaldırılması: Eğer etanol, obstrüksiyon, iskemi, viral enfeksiyonlar, ilaçlar (anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, östrojenler, kortikosteroidler, tiazid diüretikleri ve azityopürin), hiperlipidemi veya hiperkalsemi gibi etkenler düzeltilmelidir.

2-Akut pankreatitte erken tripsinojen aktivasyonunun baskılanması: Akut pankreatitte henüz yakın zamanda terk edilen bir yaklaşım antisekretuar ilaçlarla otosindirimin kötü siklüsü olarak adlandırılan sindirim enzimlerinin daha ileri ekzokrin pankreatik sekresyonunun kesilmesi fikridir. Geniş çalışmalarda somatostatin ve uzun etkili sentetik analogları olan oktreotid ve lanreotid bu amaçla kullanılmıştır (137). Bunlar pankreasın ekzokrin sekresyonunu inhibe etmektedir ancak bunların akut pankreatitte herhangi bir yararı kanıtlanmamıştır. Hatta günümüzde akut pankreatit durumunda ekzokrin sekresyon blokajı inflamasyonu artırıyor gibi görünmektedir. Bu ilaçlar pankreatik cerrahinin perioperatif düzeneğinde ve pankreatik fistül tedavisinde kullanılmasına rağmen akut pankreatit tedavisinde önerilmemektedir.

Düşük moleküler ağırlıklı proteaz inhibitörü olan gabeksat mesilat ne akut vakalarda etkinliği ne de post-ERCP pankreatitini önlediği gösterilememiştir (138,139). Nafamostat mesilate ve aprotinin gibi diğer proteaz inhibitörlerinin etkinliği yoktur (140).

3-Lokal inflamasyonun ikinci fazındaki tedavi seçenekleri: Hastalığın bu spesifik fazında kanıtlanmış bir tedavi yaklaşımı yoktur. Ancak deneysel yaklaşımlar mevcuttur. Transkripsiyon faktörü NF-kB aktivasyonu deneysel pankreatitte erken dönemde oluşmaktadır ve non-toksik bir fitoajan olan curcuminin hücresel temelde NF-kB ve akut pankreatit-1 aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. TNF- α ekspresyonu NF-kB aktivasyonunu izler ve TNF- α düzeyleri şiddetli akut pankreatitli hastalarda yüksektir.

Akut pankreatitte anti-TNF- α antikoru ile ilk deneysel çalışmalar pankreatit şiddetinde azalma olduğunu göstermiştir, ancak insan çalışmaları için halen beklenmektedir. Birçok deneysel çalışmada anti-TNF- α antikoru deneysel pankreatit indüksiyonundan kısa bir süre sonra uygulanmıştır. Bunu klinik durumlara uydurmak zordur çünkü akut pankreatitli hastalar çoğunlukla ilerlemiş hastalık fazında kendini göstermektedir. Bu durumda anti-TNF- α inhibisyonu pro- ve anti-inflamatuvar dengeyi ileri düzeyde bozarak sonucu daha da kötüleştirebilir. Bu hipotez sepsis tedavisi olarak anti-TNF- α antagonistlerinin kullanıldığı çalışmaların sonuçları ile desteklenmektedir. Ancak yararı saptanmamıştır.. Günümüzde TNF- α blokajı akut pankreatit tedavisinde önerilmemektedir

İntersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) endotelial hücre yüzeyi üzerinde eksprese edilen indüklenebilir bir proteindir. 1996'da Kaufmann ve ark. (141) şiddetli akut pankreatitli hastalarda yüksek plazma ICAM-1 düzeyleri saptamışlardır ve izleyen yıllarda ICAM-1 ekspresyonunun pankreatik inflamasyon sırasında yukarı yönde düzenlendiği doğrulanmıştır ICAM-1 antagonistlerinin kullanılması in vitro şartlarda ümit verici sonuçlar ortaya koymuştur (142).

Platelet-aktive edici faktör vasküler geçirgenliği arttırarak nötrofil invazyonuna yardım etmektedir (143). Bu ilk olarak ümit verici başka bir gelişme olarak görüldüğünde, mevcut platelet-aktivan faktör-antikoru leksipafant ile ilk faz III çalışmalarından kısa bir süre sonra bunun başka bir non-efektif terapötik yaklaşım olduğu yayınlanmıştır. Ancak etkinliği çok sınırlı olmaktadır.

4-Sistemik inflamasyonun üçüncü fazında tedavi seçenekleri: Hastalığın bu spesifik fazı için de kanıtlanmış bir tedavi yaklaşımı söz konusu değildir. Ancak deneysel yaklaşımlar vardır. Prostaglandinler farklı sitokinlerle uyarılabilir. Siklooksijenaz 2 (COX-2) ekspresyonunu takiben gelişen inflamatuvar yanıtın bir parçasıdır. Selektif COX-2 inhibitörlerinin geliştirilmesiyle spesifik COX-2 inhibisyonu akut pankreatitin hayvan modellerinde test edilmiştir ve hastalık şiddetinde azalmaya neden olmuştur (144). COX-2 inhibisyonundan dolayı sınırlı nötrofil aktivasyonu bir neden olarak görülmekle birlikte aynı zamanda COX-2 stimülasyonu da ısı şok proteini ekspresyonunu ve NF-kB ekspresyonunu inhibe etmektedir. Bu nedenle, COX-2 inhibitörlerinin akut pankreatitin erken seyrinde kullanışlı bir tedavi seçeneği olduğu ileri sürülmüştür. Bununla birlikte rofecoxible spesifik COX-2 inhibisyonu APPROV'e (Adenomatous Polyp Prevention on VIOXX) çalışmasında

miyokard infarktüsü ve trombotik inme gibi ciddi tromboembolik yan etkilerde önemli bir artışa yol açtığı belirlenmesinden önce ileri sürülmüştür.

Ancak COX-2 inhibisyonunun akut pankreatitte ve bunun sistemik komplikasyonlarında yararı kanıtlanmamıştır. Bunun yanında COX-2 inhibisyonu nedeniyle prostaglandin I₂ supresyonu pankreatik kan akımını azaltıp akut pankreatiti kötüleştirebilir.

Aktive T-lenfositler, monositlerden ve makrofajlardan sekrete edilen bir protein olan MIF (migrasyon inhibitör faktör) glukokortikoid etkisinin bir karşıt düzenleyicisidir ve pro-versus anti-inflamatuvar denge için esastır (145). MIF akut pankreatitin erişkin respiratuvar distres sendromu (ARDS) ile sonuçlanan akciğer zedelenmesinde önemli bir düzenleyicisi olduğu gözükmemektedir. Sakai ve ark. (146) anti-MIF antikollarının mortalite oranlarını iyileştirdiğini ve akut pankreatitli hayvanların akciğerinde TNF α düzeylerinde azalmaya yol açtığını, bununla birlikte aynı zamanda insanlarda da yüksek serum düzeyinin hastalık şiddeti ile korrele olduğunu göstermişlerdir

Nitrik oksit normal pankreasda doku perfüzyonunun devam ettirilmesine katkıda bulunmaktadır. İnflamatuvar hücrelerce yüksek miktarlarda nitrik oksidin üretildiği akut pankreatitte, nitrik oksit-tetikli hipotansiyon hastalığı kötüleştirmektedir. Serebest radikaller N-asetilsistein, askorbik asit veya selenyum gibi anti-oksidanlar kullanılarak kolayca tedavi edilebilir, fakat diğer tedavi girişimlerine benzer şekilde insanlardaki gözlemsel çalışmalar iyi deneysel sonuçları doğrulamamıştır (147).

5-Enfekte pankreatik nekrozun dördüncü fazındaki tedavi seçenekleri: Hastalığın daha önceki üç fazındakine karşıt olarak dördüncü faz açık bir tedavi seçeneklerine sahiptir. Bu hastalar yoğun bakım ünitelerinde tedavi edilmelidir. Herhangi bir enfekte nekroz şüphesinde gram-boyama ve bakteriyolojik kültürle nekrozun BT veya ultrasonografi eşliğinde ince iğne aspirasyonu düşünülmelidir. Eğer mikroorganizmalar doğrulanırsa cerrahi endikedir.

Nekrotizan pankreatit kendi başına cerrahi için bir endikasyon olmamasına rağmen persistan (önemli klinik iyileşme olmaksızın yoğun bakım ünitesinde 4 haftadan daha uzun süre tedavi edilenlerde) ve fulminan formlarında (maksimum yoğun bakım ünitesi bakımına rağmen hızlı ilerleyen çoklu organ disfonksiyonu) cerrahi için bir endikasyon vardır (148). Cerrahinin zamanlaması çok önemlidir. Erken cerrahi yüksek mortalite oranları gösterir. Bu nedenle günümüzde hastalık başlangıcından 3 ila 4 hafta sonra gecikmiş cerrahi önerilir. Bu

durum nekrozun düzenli sınırlar kazanmasına neden olmakta ve cerrahinin miktarını sınırlar. Böylece kanama riski azalır ve canlı doku kaybı minimuma iner.

Akut pankreatitte deneysel tedavi seçenekleri:

1.Amifostin: Amifostin inorganik tiyofosfat olup kimyasal yapısı ethanethiyol dihidrojen fosfat şeklindedir (149). Amifostin ilk olarak soğuk savaş yıllarında nükleer savaşta askeri personeli koruyacak olan bir ajan olarak 1959 yılında bulunmuştur (150). Amifostinin fare, köpek ve maymunları öldürücü dozda radyasyondan koruduğu gösterilmiştir (151). Amifostinin radyoprotektif özelliğinin saptanmasından sonra terapötik radyasyonun toksik etkilerinden normal dokuları korumada amifostinin rolüyle ilgili çalışmalara başlanmıştır. Yuhas ve ark. (152) amifostinle ön tedaviyle tümör dokusunu etkilemeden normal dokuların terapötik radyasyonun toksik etkilerinden korunabildiğini göstermiştir.

Amifostin fosforlu aminotiyol grubu içeren bir ön ilaçtır ve dokuda membrana bağlı alkalen fosfataz enzimi ile defosforile edilerek farmakolojik olarak aktif olan serbest tiyol metaboliti (WR-1065) açığa çıkar. Bu amifostinin major sitoprotektif metabolitidir. WR-1065'in oksidasyonu ile amifostinin bazı klinik ve farmakolojik özelliklerinden sorumlu olan simetrik disülfit yapıda WR-33278 oluşur (151). Yapılan çalışmalar normal dokuların özellikle kapiller seviyede olmak üzere daha fazla alkalen fosfataza sahip olduklarını göstermiştir (153,154). Alkalen fosfataz enziminin kapiller endoteldeki lokalizasyonu amifostinin serbest tiyole dönüşüp normal dokular içine lokal olarak hızlı bir şekilde alımını artırır (155). Optimum alkalen fosfataz enzimatik aktivitesi için nötral pH daha uygundur. Yapılan klinik farmakokinetik çalışmalarda; amifostinin hızla plazmadan temizlendiği, distribüsyon yarı ömrünün bir dakikadan az ve eliminasyon yarı ömrünün yaklaşık 8 dakika olduğu saptanmıştır. Amifostinin %90'ı 6 dakikada plazmadan temizlenir, %10'dan daha azı ise uygulamadan 6 dakika sonra plazmada saptanabilir (156). Amifostin metabolitleri; serbest tiyol (WR-1065), simetrik disülfit (WR-33278), sistiamin, L-sistein, L-glutation içeren miks disülfitler ve tiyol içeren proteinlerdir (157). Serbest tiyol hücre koruyucu olarak rol oynayan ana metabolittir. Utley ve ark. (158) 500 mg/kg C-amifostini farelere İV olarak verdikten 15 dakika sonra normal dokulardaki ilacın major formunun WR-1065 olduğunu göstermişlerdir.

WR-1065, içinde hücreyi sitotoksik tedavinin toksik etkilerinden üç mekanizma ile korur (151);

1-Serbest tiyol alkilleyici veya platinyum ajanların aktif ürünlerine direk bağlanarak bunları detoksifiye eder (159,160).

2-Radyasyon ve/veya çeşitli kimyasallara maruz kalındıktan sonra verildiğinde injurinin indüklediği apoptozu belirgin bir şekilde azaltabilir (161).

3-Serbest tiyol serbest oksijen radikal temizleyicisi olarak rol oynar(162).

Bu konuyla ilgili olarak Ohnishi ve ark. (162) amifostin ve aktif metaboliti WR-1065'in doksorobusin tarafından oluşturulan süperoksit anyonları, hidroksil radikallerini temizlediğini göstermişlerdir. Bolaman ve ark. (163) ise doksorobusin ile tedavi edilen rat kalp dokusunda malondialdehit seviyelerinin arttığını, amifostin tedavisi ile bu malondialdehit yükselmesinin kontrol grubuna yaklaştığını göstermişlerdir Benzer sonuçlar Bhanumathi ve ark. (163)'nın yaptığı araştırmada da elde edilmiştir Rigatos ve ark. (164) ratlarda in vitro doksorobusin fazla miktarda serbest oksijen radikali ürettiği ve amifostinle serbest oksijen radikali üretimini önemli oranda azalttığını gözlemiştir.

Daha önce de bahsedildiği gibi akut pankreatit patogenezinde serbest oksijen radikallerinin büyük rolü vardır. Ancak bir serbest oksijen radikal temizleyicisi olan amifostinin; akut pankreatitte kullanımına ilişkin hiçbir deneysel ve klinik çalışmaya rastlanmamıştır.

2.Oktreotid: Somatostatin büyüme hormonu salgılatıcı faktör için yapılan bir araştırma esnasında kazara keşfedilen 14 aminoasitlik bir peptittir (165). Gastrik, pankreatik, biliyer ve intestinal sekresyonları inhibe etmektedir. Gastrointestinal motilite ve splanknik kan akımı somatostatin ile inhibe olur. 2 dk. gibi çok kısa yarı ömre sahip olması nedeniyle somatostatin klinik kullanımda sürekli intravenöz infüzyonla verilmelidir.

Somatostatinin sentetik analogu olan oktreotid (SMS201-995, Sandostatin) 1980'lerin erken dönemlerinde ortaya çıkmıştır ve doğal hormona göre çeşitli avantajları mevcuttur. Daha uzun bir yarı ömre sahiptir ve bu nedenle de subkutan uygulamaya uygundur, daha az glukoz intoleransına neden olmaktadır (166,167). Somatostatin ve oktreoidin ekzokrin pankreas sekresyonlarında doza bağımlı azalma yapması bunların terapötik seçenekler olarak araştırılmasını tetiklemiştir. AP'de somatostatin ve oktreoidin diğer kabul edilmiş etki mekanizmaları artmış hepatik ve RES aktivitesidir. Deneysel AP'li hastalarda sağ kalım oranının glukagon ile RES'in fagositik aktivitesinin stimülasyonu ile iyileştirilebileceği gösterilmiştir (168,169). RES aktivitesinin baskılanması sağ kalımın kötüleşmesi ile

birlikte göstermiştir. AP’de vazokonstriksiyon ve pankreatik hipoperfüzyon etkisinin geri döndürülmesi ile immün ve sitokin cevabının düzenlenmesi sitoprotektif ve organoprotektif etki, asitin azaltılmasıyla üçüncü-sıvı sekestrasyonunun azaltılması ve intestinal dilatasyon da aynı zamanda AP’de somatostatin ve oktreotidin faydalı etkilerine katkıda bulunmaktadır (170-172). Deneysel AP üzerine oktreotidin etkileri ile ilgili ilk çalışma Baxter ve ark. (173) tarafından yapılmıştır. Bunlar safranin pankreasa geri akmasına neden olacak şekilde sıçan safra kanalının ligasyonu ile hastalık uyarımı yapmışlardır. Tripsin ile doyurulmuş taurokolatin intraduktal uygulandığı modelde tek doz subkütan oktreotid enjeksiyonlarının etkisi sıçanlarda değerlendirilmiştir (174).

Oktreotid tedavisi mortalite oranları, histopatolojik zarar ve biyokimyasal değişiklikler üzerinde oktreotid verilmeksizin sıvı infüzyonları alan kontrol hayvanlarına göze çarpan faydalı etkiler göstermiştir. Delany ve ark. (175) sıçanlarda travmatik pankreatit üzerine intravenöz oktreotid uygulanmasının etkilerini incelemişler ve bu tedavinin azalmış mortalite oranları ile birlikte gösterdiğini saptamışlardır.

3.Bortezomib: Bortezomib, dipeptidil boronik asit, memeli hücrelerinde proteozomun potent, selektif ve geri dönüşümlü bir inhibitörüdür (176). Proteozom çoklu katalitik enzim kompleksi olup, hücre içinde bir kaç proteini yıkar (177,178). Ubiquitin proteozom yolu çeşitli hücresel fonksiyonlara aracılık eder. Bunlar transkripsiyon, stres yanıtı, hücre siklusu düzenlenmesi, onkogenezis, ribozom biyogenezi, hücre farklılaşma ve DNA tamiri de yer alan proteinlerin yıkımı gibi.(179-182) Proteozom inhibisyonu inflamatuvar cevabı zayıflatmak için kullanılan doğma aşamasında bir stratejidir (183). Proteozom inhibisyonu, nükleer faktör- κ B (NF- κ B)’yi bunun inhibitör alt biriminin I κ B’nin proteolizini engelleyerek bloke eder. NF- κ B aktivasyonunun engellenmesi daha sonra NF- κ B bağımlı proinflamatuvar gen ekspresyonunu azaltır ve bu da azalmış inflamatuvar yanıt ile sonuçlanır. Bununla birlikte çalışmalarda aynı zamanda pro-inflamatuvar yolların major başlatıcılarından biri olan NF- κ B’nin inflamasyonun çözülmesinde anti-inflamatuvar rollere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle inflamasyonun çözülmesi sırasında NF- κ B’nin inhibisyonunun in vivo şartlarda inflamatuvar yanıtın süresini uzattığı gösterilmiştir (184).

Bortezomib proteozomun kimotripsin benzeri aktivitesini geri dönüşümlü olarak inhibe edebilen boronik asit proteozom inhibitörüdür. Bortezomib p53 ekspresyonu ve stabilitesini artırır, ayrıca p21 ve MDM2 proteinlerinin indüksiyonu, G2/M fazına bağımlı düzenleyiciler, siklin A ve B uyarımı ve birikimine yolaçarak, sonuçta G2/M fazını durdurur(185)

Akut pankreatit intrapankreatik proteazların anormal aktivasyonu ve NF-κB gibi stres-yanıtlı transkripsiyonel faktörlerin artmış transkripsiyonel aktivitesi ile tetiklenen şiddetli bir inflamatuvar hastalıktır (186-188). Sindirim enzim zimojenlerinin intrapankreatik aktivasyonu katepsin B gibi lizozomal hidrolazların inhibisyonu ile önlenabilir (189). Aynı zamanda NF-κB aktivasyonu da proteozomun ve inhibitör IκB altbirimini yıkan diğer proteazların (kalpainler gibi) inhibisyonu ile engellenebilir (190).

Bortezomibin akut pankreatitte kullanıldığına dair hiçbir deneysel ve klinik çalışma olmamasına rağmen peptid aldehyd proteozom inhibitörü olan MG132 bir deneysel akut pankreatit modelinde kullanılmış ve olumlu yanıtlar elde edilmiştir (191).

4. E vitamini: E vitaminin biyolojik aktif formu tokoferoldür. Doğal olarak mevcut olan 8 tane tokoferol vardır ve bunlardan en aktif olanı α-tokoferoldür (192). α-tokoferol plazmadaki E vitamininin % 80-90'ını oluşturmaktadır ve dokudaki major E vitamini formudur. E vitamininin önemli bir özelliği antioksidan etkinliğinin olması nedeniyle peroksitleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesidir (193). Yani oksijeni bağlayarak oksijen etkisi ile oluşabilecek istenmeyen etkilerin önüne geçer. Hücrelerde doymamış yağ asitleri (linoleik asit ve araşidonik asit gibi) kendiliğinden veya oksidan metabolitlerin etkisi sonucu kolayca oksitlenebilirler. Böylece lipid peroksidasyonuna veya protein ve yağlara kovalent bağlanarak membran hasarına neden olurlar (194).

Serbest oksijen radikalleri oluşmasının eşlik ettiği bu olay zincirini membranda önleyen ve oluştuğunda nötralize eden en güçlü antioksidan E vitaminidir. Diğer antioksidan sistemleri (C vitamini, glutatyon, peroksidaz ve beta karoten gibi) E vitamini kadar etkili değildir. Bütün hücre membranlarının lipidleri serbest radikaller tarafından oksidasyona maruz kalarak yıkılırlar. α-tokoferol bu yıkım reaksiyon zincirini engeller ve serbest radikalleri durdurur. E vitamini, hücre ve organellerin membran lipidleri üzerindeki bu etkisi nedeniyle membranları oksidatif zedelenmeye karşı korur. Böylece genel olarak membran stabilitesini sağlar (195). E vitamini lipid peroksil radikallerini etkisiz hale getirmek için, kendisinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikaline (ROO*) transfer etmek suretiyle aşağıdaki şekilde, gerçekleştirir (196).



E vitamini radikali nispeten stabil ve reaktivitesi az olan bir radikaldir. Serbest radikallerle birleşen tokoferol kinona dönüşen α-tokoferol bu şekilde radikal temizleyici işlevini gerçekleştirmektedir (197).

Plasebo ile antioksidan tedavileri karşılaştıran bir klinik çalışmada bir gruba plasebo, diğer gruba selenyum, vitamin A, vitamin C, vitamin E ve methionin verilmiş, antioksidan tedavi verilen grupta plaseboya göre biyokimyasal parametrelerde anlamlı düşme saptanmış ve bunun nedeni olarak serbest oksijen radikallerinin pankreas dokusuna zarar verici maddelerin oksidan etkilerinin azaltılması olarak gösterilmiştir (198).

Ratlarda cerulein ile oluşturan akut pankreatit modelinde plazmada vitamin E düzeyi azalırken, pankreas dokusunda arttığı ve pankreas dokusundaki oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (199).

5.C vitamini (askorbik asit): Askorbik asit monosakkaritlere benzeyen 6 karbonlu enediol yapısında lakton şeklinde bir asittir. İkinci ve üçüncü karbonlarının meydana getirdiği enediol yapısı vücutta dehidro şekline kolayca dönüşebildiği için indirgendir. Askorbik asit bir hidrojen atomunu verdiği zaman oldukça kararlı-stabil olan askorbil radikaline dönüştüğü için oldukça güçlü bir antioksidan olarak bilinmektedir. Askorbik asit'in nitrojen oksit türleri, singlet oksijen, hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve süperoksit radikaline karşı oldukça etkili olduğu görülmüştür. Askorbik asit doğal olarak beyaz kristaller şeklinde D-xylo-askorbat ve L-xylo-askorbat formunda bulunmaktadır. L-xylo-askorbat hafif alkali durumda, sıcaklıkta ve bakır iyonlarına maruz kalınması halinde okside olarak L-dehidroaskorbik asit'e dönüşür. Bu reaksiyon geri dönüşümlü bir reaksiyondur. Ancak L-dehidroaskorbik asit'tin oksidasyona uğraması sonucu oksalat ve 2,3-diketo-L-gulonik asite dönüşüm reaksiyonu geri dönüşümsüz reaksiyondur. Hem L-askorbik asit hemde L-dehidroaskorbik asit fizyolojik olarak askorbik asitin aktif formlarıdır. (200)

Canlılarda birçok immün sistem hücresi tarafından oluşturulan radikaller vücuda dışardan alınan askorbik asit, α - tokoferol, beta-karoten ve canlı vücudunda bulunan antioksidan enzimler ile dengelenerek optimum koruma sağlanır. Askorbik asit özellikle fagositler tarafından oluşturulan radikallerin plazma membranlarına ve plazma lipitlerine zarar vermesini engeller. Ayrıca askorbik asit'in hücre içi siklik nükleotit seviyelerini ayarlama, prostaglandin sentezinin düzenlenmesinde ve sitokin üretiminin artırılması gibi metabolik faaliyetlerde etkisinin olduğu düşünülmektedir. (201)

İntraperitoneal L-arjinin indüklü deneysel akut pankreatitte daha önceden nasetilsistein, selenyum ve vitamin C kombinasyonu kullanarak yapılan bir çalışmada hastalık seyrinin erken döneminde uygulandığında pankreatik yaralanmayı azalttığı ortaya konulmuştur (22).

85 akut pankreatitli hastanın değerlendirildiği bir çalışmada vitamin C'nin oksidatif stresi azaltarak hastaların iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (202).

Serbest oksijen radikalleri:

Serbest radikal, bir ya da daha çok çiftleşmemiş elektron içeren bağımsız varlığını sürdürme yeteneğindeki bir yapıdır. Çiftleşmemiş elektronun biri yörüngede yalnızdır. Elektronlar yörüngede çiftleşmiş halde daha stabil oldukları için radikal olmayan yapılardan daha reaktif bir durumda bulunurlar. Bu radikaller radikal olmayan yapıdaki maddelerle çeşitli reaksiyonlara girerler.

Bu reaksiyonlar; çift olmayan elektronunu vermek, bir elektronu ayırmak ve diğer bir moleküle birleşmektir. Reaksiyonların her biri birer zincir reaksiyondur ve tümü diğer bir radikalin oluşumu ile sonuçlanmaktadır.

Bunlar:

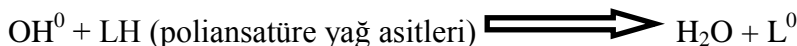
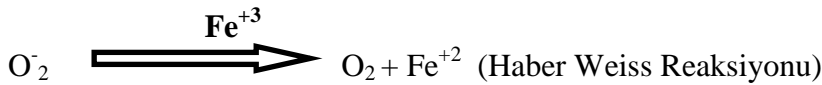
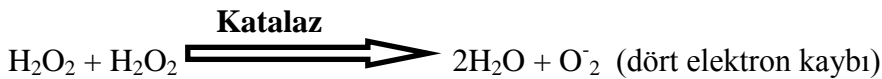
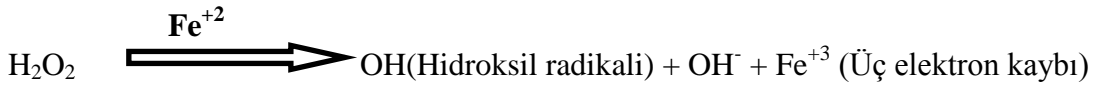
a-Diğer bir radikal ile reaksiyon,

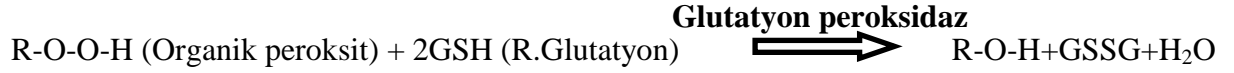
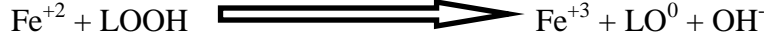
b-Zincir kırıcı antioksidan moleküller ile reaksiyon (E ve C vitaminleri),

c-Enzimatik antioksidan savunma mekanizmalarıdır (süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz, elastaz).

Oksijen aerobik organizmalarda enerji üretimi için gereklidir. Hala diatomik oksijen molekülleri (diradikaller) serbest radikaller kimyasında en önemli başlatıcı faktörlerdir. Oksijen her ne kadar iyi bir oksidan olsa da elektron dönüşümünde çeşitli kısıtlayıcı reaksiyonlar bulunmaktadır (203,204).

Bu reaksiyonlar;





Serbest oksijen radikalleri (süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri) iskemi, inflamasyon, yaşlılık ve karsinogeneziste rol oynamaktadır. Mukozal ve damar geçirgenliğini arttıran, nötrofillerin aktivasyonunu etkileyen, karbohidrat, lipid, protein ve DNA üzerinde zedeleyen etkileri vardır (205,206). Mitokondrial ve mikrozomal enzimler, lipo ve siklooksijenaz, ksantin, amin ve aldehid oksidaz gibi enzimlerin aktivasyonu sonucu serbest oksijen radikalleri ortaya çıkmaktadır. Hidroksil radikallerinin hücre membranındaki yağ asitleri ile girdiği reaksiyona lipid peroksidasyonu denir. Lipid peroksidasyonu hücre ölümüne membran geçirgenliğini bozarak neden olmaktadır. Buna karşın antioksidan koruyucu enzimler (katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz) serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücresel ve moleküler hasara karşı membran bütünlüğünü koruyarak koruyucu rol oynarlar (207,208)

GEREÇ VE YÖNTEM (III)

Etik Kurul Onayı

Bu deneysel çalışmaya başlamak için Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'ndan (No: B.30.2.ADÜ.0.06.00.00/124-HEK/2008/036) onay alındı.

Proje

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Proje Fonu'ndan (No: TPS-0900) kısmen desteklenmiştir.

Çalışma Yeri

Deneysel çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Veteriner Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde yapıldı.

İlaçlar

Amifostin (Ethyol 500 mg/10ml'lik flakon, Er-Kim), L-Arginin (Merck-1.01544.0250), C vitamini (vitabiol C 500 mg/5ml'lik ampül, İbrahim Ethem Ulagay), E vitamini (Evigen 300 mg/2ml'lik ampül, Eras), bortezomib (Velcade 3.5mg flakon, Janssen-Cilag), octreotid (Sandostatin 100 µg/1ml'lik ampül, Novartis), serum fizyolojik (%0.9 NaCl 1000 ml'lik şişe, Eczacıbaşı-Baxter) kullanıldı. İlaçlar firmaların genel merkezlerinden ücretsiz olarak karşılanmıştır.

Ratlar

Ortalama 246±35 g (175-336 g) ağırlığında, 6 aylık erişkin, toplam 47 dişi Wistar rat çalışmaya alındı. Ratlar Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden sağlandı. Ratlar 23±2⁰C ısıda, %60-75 nemli ortamda, fare yetiştirme yemi (Best Yem, Gebze) ve su ile beslenerek 11 saat gündüz 13 saat gece ortamında bekletildi. Ratlar 7 guruba ayrılarak çalışma yapıldı. Kontrol gurubuna 5 diğer guruplara ise 7'şer rat alındı. Guruplar arasında ağırlık yönünden istatistiksel olarak fark yoktu (p > 0.05).

1.Guruptaki (n=5) ratlara intraperitoneal olarak (İP) 1 ml/100 gr olarak serum fizyolojik (SF),

2.Guruptaki (n=7) ratlara İP olarak 5 g/kg L-Arginin,

3.Guruptaki (n=7) ratlara İP olarak 30 dk önce 200 mg/kg E vitamini sonrası 5 g/kg L-Arginin,

4.Guruptaki (n=7) ratlara İP olarak 30 dk önce 200 mg/kg C vitamini sonrası 5 g/kg L-Arginin,

5.Guruptaki (n=7) ratlara İP olarak 30 dk önce 200 mg/kg amifostin sonrası 5 g/kg L-Arginin,

6.Guruptaki (n=7) ratlara İP 30 dk önce 1 mg/kg bortezomib sonrası 5 g/kg L-Arginin,

7.Guruptaki (n=7) ratlara İP 5 g/kg L-Argininden 30 dk önce, 30, 270 ve 510 dk sonra SC olarak 10 mcg/kg octreotid sonrası uygulandı.

Tüm ratlar aynı koşullarda ve aynı gıdalar ile beslendi ve uygulamadan 12 saat önce aç bırakıldı. Son enjeksiyondan 24 saat sonra servikal dislokasyondan ile tüm ratlar öldürüldü. Daha sonra SF ile yıkanan pankreas tam olarak ikiye bölünecek yarısı patolojik olarak

incelemek diğeri yarısı da biokimyasal analizler için kullanılmak üzere -80°C 'de analizlerin yapılacağı güne kadar saklandı.

Biokimyasal analizler

Çalışma gününde kuyruk venlerinden alınan kanların serumunda amilaz ve lipaz düzeylerine Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı.

Amilaz düzeyleri (Abbott, Amylase Reagent, 7D58-20 ve ya 7D58-30 kit ile) spektrofotometrik olarak Architect C-8000 (Abbott) cihazı kullanılarak incelendi. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

Lipaz düzeylerine (Abbott, lipase Reagent, 7D80 kit ile) spektrofotometrik olarak Architect C-8000 (Abbott) cihazı kullanılarak bakıldı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

Çalışma günü pankreas dokusu homojenize edilerek; hidrojen peroksit (H_2O_2), total glutatyon (GSH), lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA), serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimler olan katalaz, Gpx ve SOD spektrofotometrik olarak ve UV-1501 Shimadzu spektrofotometresi ile, yine pankreas dokusunda IL-6, TNF- α ve IL-1 β ELISA yöntemi ve BIOTEK ELx808 Absorbance Microplate Reader cihazı ile Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı.

H_2O_2 düzeylerine (Colorimetric H_2O_2 kit, Katalog numarası 907-015, Assay Design) kalorimetrik kantitatif H_2O_2 yöntemi kullanılarak bakıldı. Bu yöntem asidik ortamda H_2O_2 ile Fe^{+2} iyonlarının ferrik (Fe^{+3}) iyonlara oksidasyonu esasına dayanmaktaydı.. Fe^{+3} 550 nm'de dye xylenol orange indikatörü ile stabil renkli kompleks oluşturmak için bağlanır (209). Önce reagent oluşturmak için oda sıcaklığında 500 μL tampon solüsyonuna 34 μL 100.000 ng/ml H_2O_2 olacak şekilde standart eklendi ve vortekslendi. 30 dk bekletildi. Bir tüpe 50 μL tampon alındı ve üzerine 50 μL standart, 50 μL homojenize edilmiş pankreas dokusu eklendi. Daha sonra 100 μL reagent koyularak karıştırıldı ve plaklara konuldu. Oda sıcaklığında 30 dakika enkübasyon sonrasında 550 nm'de okundu. Sonuçlar μM olarak hesaplandı.

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim düzeylerine (Bioxytech SOD-525, Katalog numarası 21010-Oxis Research Product kit) spektrofotometrik olarak ve Nebot ve arkadaşlarının yöntemi ile bakıldı (210). Bu yöntemde SOD aktivitesi Cu/Zn, Fe, Mn-SOD tipinden bağımsız olarak ölçüldü. Spektrofotometre 525 nm'de ayarlandı. 2-amino-2-methyl-1,3-propanediol, borik asit ve DTPA (diethylenetriaminepentaasetik asit) içeren ve 37°C 'de, pH 8,8'de hazırlanmış 100 ml tampon solüsyonundan 900 μl her bir örnek için tüpe konuldu.

1/10 oranında ile homojenize edilen renal korteks dokularından 40 µl tüpe eklendi. 3,3 ml 1,4,6-trimethyl-2-vinylpyridium trifluoromethanesulfonate ve alkol karışımından oluşan reagent-2'den 30 µl tüpe konarak vortekslendi ve 37 °C'de bir dakika enkübe edildi. 3,3 ml 5,5,6a, 11-b,tetrahydro-3,9, 10-trihydroxybenzo (c) fluorene, HCl, ethanol ve DTPA karışımından oluşan reagent-1'den 30 µl son olarak tüpe eklendi ve vortekslenerek spektrofotometrik olarak okundu. Reagent ile yapılan işlemler buzda yapıldı. Sonuçlar Ünite/g protein olarak verildi.

Glutatyon peroksidaz (Gpx) düzeylerine (Bioxytech GPx-340 katalog numarası 21017 Oxis Research Product kit) spektrofotometrik olarak bakıldı (211). Pankreas dokusu pH:7.5'de 50mM TRIS-HCl ve 5 Mm EDTA ve 1 mM 2-merkaptoetanol içeren soğuk tampon ile homojenize edildi. 5000 devirde 10 dakika, +4⁰ C'de santrifüje edildi. Enzim içeren süpernatant kısmı alındı. Spektrofotometre küvetine sırası ile 1:10 oranında sulandırılmış 350 µL örnek tamponu, 350 µL NADPH reagent ve 70µL örnek eklendi. En son 350 µL dilüe (1/10.000) tert-butyl hydroperoxide eklenerek iki kez karıştırıldı. 340nm'de 25⁰C de 3 dakika absorbans ölçümü yapıldı. NADPH'ın (reaksiyondaki) azalmasıyla ortaya çıkan absorbsiyon düşüşü her dakika kaydedildi. Sonuçlar mU/g protein olarak verildi.

Katalaz düzeylerine (Bioxytech catalase-520, katalog numarası 21042 Oxis Research Product kit) ile spektrofotometrik olarak bakıldı (212). 1/10 oranında homojenize edilen 500 µl rat kalp homojenize dokusu 2500 devirde santrifüje edildi ve 5 dakika +4 °C'de bekletildi. Üzerine fosfat tamponundaki surfaktan ile katalaz karışımından meydana gelen standart konuldu. Daha sonra 500 µl fosfat tamponundaki 10mM H₂O₂ eklendi ve 1dakika enkübe edildi. 500 µl sodyum azide eklendikten sonra ağzı kapatılarak vortekslemeden karıştırıldı. 20 µl bu karışımdan tüpe konarak üzerine 2 ml HRP (fosfat tamponundaki Horseradish peroksidaz) ve kromogen karışımı (110 µl HRP+110 ml kromogen) eklenerek vortekslemeden karıştırıldı. 10 dakikalık enkübasyon sonrası 520 nm'de adsorbansı okundu. Tüm işlemler oda sıcaklığında yapıldı. Sonuçlar Ünite/g protein olarak verildi.

Malondialdehid (MDA) düzeylerine (Bioxytech MDA-586 katalog numarası 21044-Oxis Research Product kit) spektrofotmetrik yöntem ile bakıldı. TBRS yöntemi hem serbest ve hem de proteine bağlı MDA ile reaksiyona girdiği için nonspesifik bir reaksiyondur. Bu neden ile MDA-586 yöntemi ile bir hidroliz sonrası serbest MDA düzeyleri ölçülmesi amaçlandı. Böylece 4-hidroksialkenal gibi diğer lipid peroksitler de sonuçları etkilememiş olacaktır. Yöntemin esası, bir kromojenik ajan olan 2 mol NMPI (N-methyl-2-phenylidole) ile

MDA'in reaksiyona girerek stabil karbocyanin boyası oluşturmasına ve 586 nm'de spektrofotometre ile ölçüme dayanmaktaydı (213,214). 10 µl methanoldeki probukol tüpe kondu. Üzerine homojenize edilmiş µl doku ve 640 µl dilüe reagent-1 (NMPI) eklenmesinden sonra vortekslendi. Daha sonra 150 µl reagent-2 (konsantre HCl) eklenmesinden sonra tekrar vortekslendi ve 45 °C'de 60 dakika enkübe edildi. 10.000 devirde 10 dakika santrifüje edildi oluşan berrak bir süpernatant spektrofotometre küvetine alınarak 586 nm'de okundu. Sonuçlar nmol/g doku olarak verildi.

Total glutatyon (GSH) düzeylerine (Bioxytech GSH-420 katalog numarası 21023-Oxis Research Product kit) spektrofotometrik olarak bakıldı (215). Pankreas dokusu %0.9 NaCl solusyonu ile yıkandıktan sonra 1/20 oranında Trichloroacetic asitin sulu çözeltisi ile homojenize edildi. Ortaya çıkan homojenat 3000 devirde +4°C de 10 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatanttan 200µL alınarak tüpe konuldu. Üzerine tampon olarak 200 µl potasyumfosfat ve diethylenetriaminepentaacetic asit eklendikten sonra indirgeyici ajan olarak HCl içerisindeki tris 2-carboxyethyl-phosphineden 200µl eklenerek karıştırıldı. Chromogen olarak HCl içerisindeki 1-Methyl-4-chloro-7-trifluormethylquinolinium methylsulfatdan 200µL ve son olarak da sudaki NaOH'den 200µL eklenerek tekrar karıştırıldı. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Spektrofotometrede 420nm'de ölçüldü. Sonuçlar µmol/g protein olarak verildi.

Homojenize edilmiş pankreas dokusunda **IL-6** (Invitrogen immunoassay IL-6 kit, Katalog numaraları KHC 0061, 0062, 0061C, Biosource products), **TNF-α** (Invitrogen immunoassay TNF-α kit, Katalog numaraları KHC 3011, 3012, 3011C, Biosource products) ve **IL-1β** (Invitrogen immunoassay IL-1β kit, Katalog numaraları KHC 0011, 0012, 0011C, Biosource products) ELISA yöntemi ile bakıldı.

Histopatolojik inceleme

Histopatolojik inceleme için gönderilen materyaller 24 saat %10'luk nötral tamponlu formalinde tespit edildi. Rutin doku işlemleri sonrası parafin bloklara gömülen örneklerden 4µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelendi. İncelemede pankreas dokusunda ödem, inflamasyon, nekroz ve toplam patolojik değişiklikler uygun skorlama sistemlerine göre değerlendirildi (216). Tablo.1'de skorlama sistemi görülmektedir. İmmunhistokimyasal boyama Avidin-Biyotin kompleks sistemi (ABC) kullanılarak yapıldı.

Bu yöntem için bloklardan hazırlanan 4µm kalınlığındaki kesitler poli-L-lysin (MicroSlides Snowcoat X-tra, Surgipath, Richmond, IL, USA) kaplı lamlara alınarak oda ısısında bekletildi. Tüm örnekler NF-κB immunhistokimyasal boyası uygulandı.

Tablo1. Akut pankreatitte histolojik skorelama

Parametre	Skor	Bulgu
Ödem	0	Yok
	1	Lobuller arasında fokal artış
	2	Lobuller arasında diffüz artış
	3	Asini harabiyeti ve ayrılması
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	0	Yok
	1	Nadir ve ya duktal kanalların çevresinde
	2	Parankim içinde (lobullerin <%50'si)
	3	Parankim içinde (lobullerin >%50'si)
Nekroz	0	Yok
	1	Mimari değişiklikler, piknotik nükleus
	2	Fokal nekroz (parankimin <%10'unda)
	3	Diffüz nekroz (parankimin >%10'unda)

İmmunhistokimyasal boyama

1-Poly-L-lysin kaplı lama alınan kesitler bir gece 37 derecelik etüvde bekletildi.

2-30 dakika 56 derecelik etüvde bulunan ksilolde, 15 dakika oda sıcaklığındaki ksilolde deparafinize edildi.

3-Azalan oranlarda alkol serilerinde rehidrate edildi.

4-Kesitler önceden hazırlanmış olan pH:7.2 olan phosphate-buffered-saline(PBS) solüsyonunda beş dakika bekletildi.

5-Endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilebilmesi için, kesitlere %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatılarak beş dakika bekletildi.

6-Kesitler beş dakika PBS (fosfatla tamponlanmış tuz) solüsyonunda yıkandı.

7-Sitrat Buffer (ph:6.0) solüsyon dolu kaplara yerleştirilerek mikrodalga fırında 750 watt'da beş dakika, 500 watt'da 2x5 dakika süre ile inkübasyon işlemi yapıldı. Böylece antijenin açığa çıkarılması sağlandı.

8-Kaynatmadan sonra kesitler oda ısısında soğumaya bırakıldı.

9-Kesitler beş dakika PBS solüsyonunda yıkandı ve kurulandı.

10-Herbir kesitin üzerine primer antikor (NF- κ B) solüsyonu dokuyu tamamen örtecek şekilde damlatıldı ve bir saat bekletildi.

11-Kesitler beş dakika PBS solüsyonunda yıkanarak bağlanmış antikorlar uzaklaştırıldı.

12-Biyotine bağlayıcı sekonder antikor eklendi ve 10 dakika bekletildi.

13-Kesitler beş dakika PBS solüsyonunda yıkandı ve kurulandı.

14-Kesitlere Strepdovidin peroksidaz solüsyonu damlatılarak 10 dakika beklendi.

15-Kesitler beş dakika PBS solüsyonunda yıkandı.

16-Renk verecek görüntüyü sağlamak amacı ile Diaminobenzidin tetraklorid (DAB) damlatıldı ve kahverenk gözlenene kadar bekletildi.

17-Çeşme suyunda beş dakika yıkandı.

18-Zemin boyanması için kesitlere hematoksilen ile zıt boyama yapıldı.

19-Çeşme suyunda beş dakika yıkandı.

20-Dehidratasyon için kesitler sırası ile yükselen oranlarda alkol serilerinden geçirildi ve ksilolde saydamlaştırma sonrası balsam ile kaplandı.

Pozitif kontrol için önceden pozitifliği bilinen dokular kullanıldı. Boyanma aşamasında sonra kesitler ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japan) altında 4, 10, 20 ve 40'luk büyütmelemlerde incelendi ve boyanma yok "0", zayıf boyanma "+", orta dereceli boyanma "++" ve kuvvetli boyanma "+++" olarak semikantitatif olarak skorlandı.

İstatistiksel yöntem

Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Sonuçlar istatistiksel olarak SPSS 13.0 programında Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleriyle karşılaştırıldı. $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Pankreas dokusundaki biyokimyasal incelemeler

Tüm guruplardaki H_2O_2 düzeyleri kontrol gurubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0.004$). Yalnızca L.Arginin+Vit C gurubundaki değerler L.Arginin gurubundan daha

düşüktü ($p=0.018$). Yine bu grupta H_2O_2 düzeyleri L.Arginin+AMI ($p=0.018$) ve L.Arginin+oktreotid ($p=0.013$) gruplarından daha düşüktü.

L.Arginin+AMI ($p>0.05$) dışındaki tüm gruplardaki **MDA düzeyleri** kontrol gurubundan yüksekti. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyleri L.Argininle ($p=0.019$), L.Arginin+Vit E ile ($p=0.004$), L.Arginin+ Vit C ile ($p=0.018$), L.Arginin+bortezomib ve L.Arginin+oktreotid ile ($p=0.007$) idi. L.Arginin+AMI L.Arginin gurubuna göre MDA düzeylerini belirgin derecede düşürdü ($p=0.006$). Yine bu gruptaki MDA düzeyleri L.Arginin+Vit E ($p=0.015$), L.Arginin+ Vit C ($p=0.018$), L.Arginin+bortezomib ($p=0.002$) ve L.Arginin+oktreotid ($p=0.006$) gruplarından daha düşüktü.

Yalnızca L.Arginin+Vit E ve L.Arginin+AMI gruplarındaki **GSH düzeyleri** kontrol gurubundan daha düşüktü ($p=0.004$). İlginç olarak L.Arginin+AMI gurubundaki düzeyler L-Arginin gurubundan daha düşüktü (Her ikisi için $p=0.046$). L.Arginin+oktreotid gurubundaki GSH düzeyleri L.Arginin+Vit E ve L.Arginin+AMI (Her ikisi için $p=0.018$) ile L.Arginin+bortezomib ($p=0.025$) gruplarından belirgin derecede daha yüksekti.

SOD düzeyleri kontrol gurubuna göre karşılaştırıldığında L.Arginin+ Vit C ($p=0.007$), L.Arginin+bortezomib ($p=0.012$) ve L.Arginin+oktreotid ($p=0.004$) gruplarında daha yüksekti. L.Arginin gurubu ile karşılaştırıldığında da bu üç gruptaki SOD düzeyleri L.Arginin+oktreotid gurubunda daha belirgin olmak üzere anlamlı derecede yüksekti (p değerleri sırasıyla 0.009, 0.048 ve 0.006). L.Arginin+oktreotid gurubundaki değerler L.Arginin+Vit E ve L.Arginin+AMI ($p=0.018$) ile L.Arginin+ bortezomib ($p=0.048$) gruplarından belirgin derecede daha yüksekti. L.Arginin+ Vit C ve L.Arginin+ bortezomib gruplarındaki değerler L.Arginin+Vit E gurubundan (sırasıyla $p=0.013$ ve 0.006) yüksek saptandı.

Kontrol gurubundaki **katalaz düzeyleri** L.Arginin ve L.Arginin+Vit E grupları dışında ($p>0.05$) diğer dört gruptan yüksekti. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyleri L.Arginin+ Vit C ile ($p=0.007$), L.Arginin+AMI, L.Arginin+bortezomib ve L.Arginin+oktreotid ile ($p=0.004$) idi. L.Arginin gurubundaki değerler bu dört grupla kıyaslandığında yüksekti (p değerleri L.Arginin+Vit C için 0.013, diğer üç grup için 0.002). L.Arginin+Vit E gurubundaki değerler de bu dört gruptan anlamlı derecede yüksekti (p değerleri L.Arginin+Vit C için 0.025, diğer üç grup için 0.002). L.Arginin+Vit C gurubundaki katalaz düzeyleri hem L.Arginin+oktreotid ($p=0.007$) hem de L.Arginin+bortezomib ($p=0.007$) gurubundan daha fazlaydı.

Gpx düzeyleri açısından kontrol gurubu ve L.Arginin ile diğer guruplar karşılaştırıldığında bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Ancak L.Arginin+AMI gurubundaki değerler L.Arginin+Vit E gurubundan ($p=0.012$), L.Arginin+oktreotid gurubundaki değerler de L.Arginin+Vit E ($p=0.013$) gurubundan daha düşüktü.

IL-1 β ve TNF- α düzeyleri bakımından kontrol gurubu ve L.Arginin ile diğer guruplar karşılaştırıldığında bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

Yalnızca L.Arginin+bortezomib gurubundaki **IL-6 düzeyleri** kontrol gurubundan belirgin derecede düşüktü ($p=0.028$). Yine bu guruptaki düzeyler L.Arginin+Vit E gurubundan düşüktü ($p=0.047$).

Pankreas dokusunda histopatolojik değerlendirme

Kontrol gurubundaki **ödem skoru** L.Arginin ($p=0.007$), L.Arginin+Vit E ($p=0.028$), L.Arginin+Vit C ($p=0.029$), L.Arginin+AMI ($p=0.008$), L-Arginin+ bortezomib ($p=0.006$) ve L-Arginin+ oktreotid ($p=0.006$) guruplarından düşüktü. Hem L.Arginin hem de diğer gurupların ödem bakımından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

Kontrol gurubundaki **inflamasyon skoru** L.Arginin ($p=0.018$) ve L.Arginin+AMI ($p=0.022$) guruplarından düşük bulundu. L-Arginin+bortezomib gurubundaki skor L.Arginin gurunundan daha düşüktü ($p=0.007$). L-Arginin+bortezomib ve L-Arginin+ oktreotid gurubundaki skorlar L.Arginin+AMI (sırasıyla $p=0.009$ ve $p=0.05$) gurubundan daha düşük idi.

L.Arginin ($p=0.002$), L.Arginin+Vit E ($p=0.008$) ve L.Arginin+AMI ($p=0.002$) guruplarındaki pankreas dokusundaki **nekroz skoru** kontrol gurubundan fazlaydı. L-Arginin+oktreotid ($p=0.002$) ve L-Arginin+bortezomib ($p=0.012$) guruplarındaki nekroz da L.Arginin gurubuna kıyasla daha azdı. L-Arginin+ oktreotid gurubundaki nekroz L.Arginin+AMI ($p=0.002$) ve L.Arginin+Vit E ($p=0.01$) guruplarından daha azdı. Yine L-Arginin+bortezomib gurubundaki nekroz yine bu iki guruptan daha azdı (sırasıyla $p=0.01$ ve 0.031).

Kontrol gurubundaki **NF κ B boyanma skorları** L.Arginin ($p=0.002$), L.Arginin+Vit E ($p=0.008$), L.Arginin+Vit C ($p=0.029$) ve L.Arginin+AMI ($p=0.005$) guruplarından daha düşüktü. Ancak L.Arginin gurubu ile diğer guruplar arasında bir fark yoktu ($p>0.05$). L.Arginin+AMI gurubundaki skorlar L-Arginin+bortezomib ($p=0.036$) ve L-Arginin+oktreotid ($p=0.024$) guruplarından daha yüksek bulundu.

Toplam histopatolojik skora değerlendirildiğinde; kontrol gurubundaki skor L-Arginin (p=0.003), L-Arginin+Vit E (p=0.014), L-Arginin+AMI (p=0.004), L-Arginin+bortezomib (p=0.007) ve L-Arginin+ oktreotid (p=0.029) guruplarından düşük bulundu. L-Arginin gurubundaki skor L-Arginin+bortezomib (p=0.005) ve L-Arginin+ oktreotid (p=0.009) guruplarından daha yüksekti. L-Arginin+AMI gurubundaki skorlar da L-Arginin+ oktreotid (p=0.006) ve L-Arginin+bortezomib (p=0.003) guruplarından daha fazlaydı.

Pankreatik enzimler

Yedi gurupta da işlem öncesi ve sonrası alınan amilaz ve lipaz değerleri arasında fark saptanmadı (p>0.05). Yine guruplar arasında da pankreatik enzimler arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0.05).

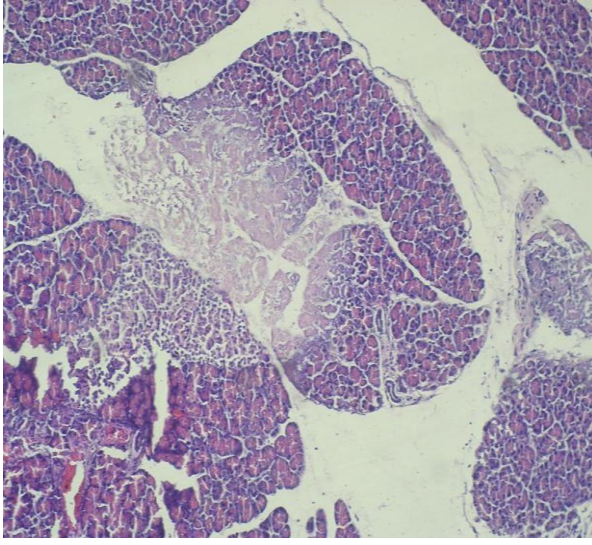
Tablo.2 Biyokimyasal parametreler

	Kontrol (n=5)	L-Arginin (n=7)	L-Arginin+ E Vitamini (n=7)	L-Arginin+ C Vitamini (n=7)	L-Arginin+ Amifostin (n=7)	L-Arginin+ Bortezomib (n=7)	L-Arginin+ Oktreotid (n=7)
Ağırlık (g)	252±17	240±40	281±43	230±22	238±37	242±37	241±21
Ölüm	0	3	4	2	6	7	2
GSH (µmol/g prot)	1296±435.4	820±345.3	540±168.9	855,7±495.2	520±126	572.9±272.1	1384.3±611.2
H ₂ O ₂ (µM)	4862±654	12888.6±3383.9	10487.2±4017.2	8195.7±2226	13864.3±4069.3	10047.1±2183.1	13281.4±4015
MDA (nmol/g doku)	110.2±100	351±156.9	361.4±159.1	398.6±177.3	132.9±50.6	484.3±126.3	395.7±172.4
SOD (U/g prot)	14904±3687.7	16594.3±8483.5	14285.7±9445.9	31305.7±7591.7	22678.6±11066.4	27335.7±11361	39641.4±13186.2
Katalaz (U/g prot)	882.9±221.2	766.8±233	715.5±200.6	438.7±172.9	336.4±5.3	331.4±7.6	333.5±3.3
Gpx (mU/g prot)	1736±372.3	1912.9±265.8	1944.3±112.7	1838.6±105.6	1764.3±27.6	2001.4±331.7	1791.4±59
IL-6	72±21,68	61,43±23,40	61,43±14,64	57,14±17,04	54,3±12,7	47,1±9,51	52,9±9,51
TNF-α	232±70.1	255.7±76.6	257.1±92.3	222.9±71.1	218.6±86	234.3±124.5	252.9±138.9
IL-1β	454±167.6	307.1±93.8	360±207.4	461.4±320.3	347.1±237.9	335.7±217.7	300±112.4
Amilaz(önce)	308.9±18.9	379.5±139.7	369.3±19.1	349.8±78	215±22	280±33	368.8±68.3
Amilaz(sonra)	424.8±71.2	945.7±750.6	696.5±542	1045.2±627	1091±686	1087±673	473.2±248.8
Lipaz(önce)	6.8±5.7	9±5	8.7±3.1	20.4±25.6	4±1.8	5.8±2.3	10.2±4.3
Lipaz(sonra)	19.6±29.3	26.8±43.5	168±188.6	368.8±495.2	5±2.1	7.2±3.1	23.4±33.5

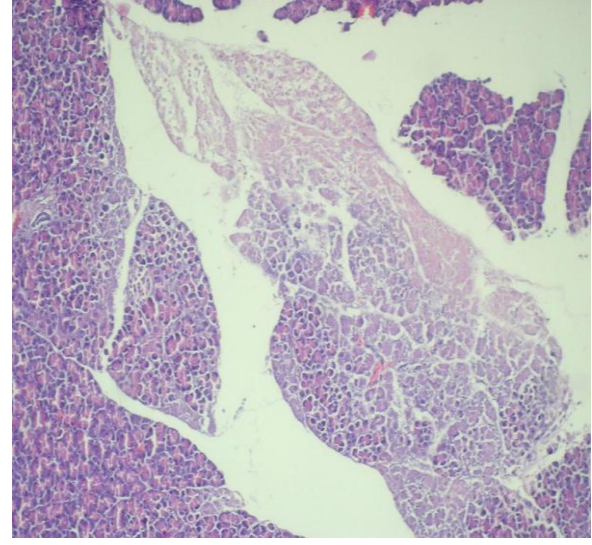
Tablo.3 Histopatolojik parametreler

	Kontrol (n=5)	L-Arginin (n=7)	L-Arginin+ E Vitamini (n=7)	L-Arginin+ C Vitamini (n=7)	L-Arginin+ Amifostin (n=7)	L-Arginin+ Bortezomib (n=7)	L-Arginin+ Oktreotid (n=7)
İnflamasyon	1±0	1.7±0.5	1.3±0.8	1.1±0.9	2.1±0.9	1±0	1.4±0.7
Ödem	0.2±0.5	1.1±0.4	1.1±0.7	0.9±0.4	1.3±0.5	1±0	1±0
Nekroz	0±0	1.1±0.4	1.1±0.7	0.7±1	1.4±0.5	0.3±0.8	0.1±0.4
NF-κB	0.2±0.5	1.1±0.7	1.6±0.8	1.3±1	1.9±0.7	0.7±1	0.9±0.7
Toplam	1.2±0.5	4±0.8	3.6±1.5	2.7±1.9	4.9±1.6	2.3±0.8	2.3±1

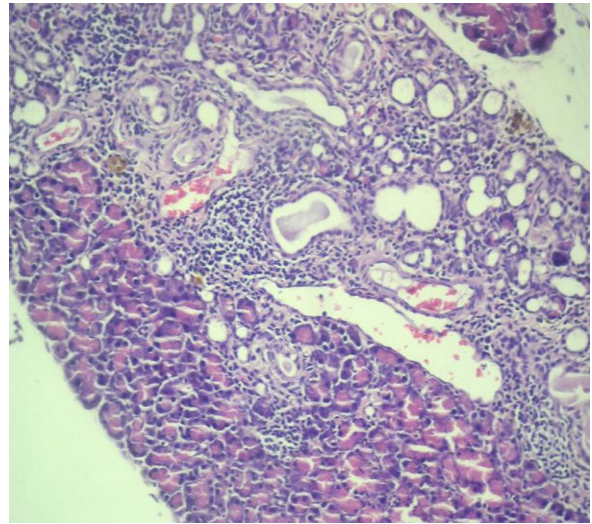
RESİMLER



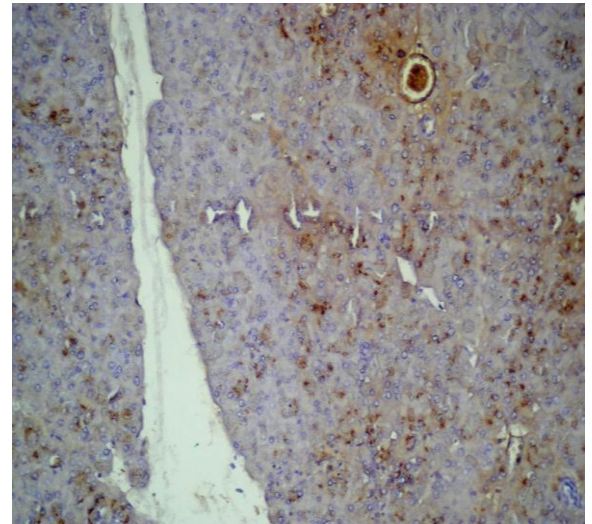
Resim 1. Nekroz ve inflamasyon +2



Resim 2. Geniş nekroz +3



Resim 3. Şiddetli inflamasyon +3



Resim 4. NF-κB +2

TARTIŞMA

Akut pankreatit, etiyolojisi ne olursa olsun asiner hücre içinde başlamakta nekroz, ödem, hemoraji ve yağ nekrozu meydana gelmektedir. Akut pankreatitin patogenezinde başlangıçta en önemli faktör tripsinojenin uyarılması ve tripsine dönüşümüdür. Düşük pH ve kalsiyum salınımı bu uyarıda rol oynamaktadır (1,3). Lokal doku zedelenmesine inflamatuvar yanıt olarak NF- κ B, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, trombosit aktive edici faktör, monosit kemoatraktan sitokin, hücre içi adezyon molekülleri açığa çıkar ve kompleman aktive olur.

Akut pankreatit patogenezinde oksidatif stres sonucu lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikalleri de etkili olabilmektedir (12-16). Yapılan deneysel pankreatit çalışmalarında lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeyleri artar iken GSH ve serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimler olan Gpx, katalaz ve SOD'nin azaldığı görülmüştür (19-21).

Argininin indüklediği pankreatit, şiddetli nekrotizan akut pankreatitin deneysel bir modelidir. Argininin ip. enjeksiyonundan 24 saat sonra, doku enflamasyonu, laboratuvar parametrelerinin karakteristik değişimleri ve histoloji ile doğrulanmaktadır. Model oldukça tekrarlanabilir özelliğe sahip olup, invaziv değildir ve doza-bağımlı asiner nekroz oluşturur ve bu nedenle de akut pankreatit patogenezi çalışmak için ideal bir modeldir (119). Bu non-invaziv akut pankreatit sıçan modeli Mizunuma ve ark. (119) tarafından geliştirilmiştir Bu modelde yüksek dozda arginin verilerek akut nekrotizan pankreatit oluşturulur. Mortalite oranı %2.5'dir (119-121). Argininin akut pankreatite yol açma mekanizması henüz bilinmemektedir.

Bu çalışmada L-arginin indüklediği deneysel akut pankreatiti modelinde H₂O₂ ve MDA düzeyleri artarken sitokinler ve diğer serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimlerin düzeyinde bir değişiklik ortaya çıkmadı.

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen partikülleri (ROP)" de denmektedir (217). Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikali oluşturur. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırır (220).

Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehid grubundan MDA'dır. Oksijen türleri membran lipidlerinin etkili bir peroksidasyonunu başlatırlar. Lipid peroksidasyon belirteci olan MDA 30 dk. sonra belirlenebilen önemli bir artış yaparlar ve bu 16 saate kadar devam eder (218). Aynı zamanda, glutasyon tiyollerinde (GSH) belirgin bir azalma olur (10,11). Schonberg ve arkadaşları sodyum-taurokolat ile indüklenen hemorajik pankreatitte peroksidasyon ürünlerini, konjuge dienleri ve MDA'ı belirlemişlerdir. Doku MDA düzeyleri artmıştır ve 1 saat sonra en yüksek düzeyine ulaşmıştır. 2 saat sonra lipid peroksitler kontrol düzeylerine geri dönmüştür.

Deneysel olarak katalaz, SOD ve Gpx gibi enzimler ile hücre içi total GSH, serbest oksijen radikallerinin hücrelere verdikleri zararlardan korumaktadırlar (219).

Katalaz, hem katalitik hem de peroksidatik aktiviteye sahip olup 2 molekül hidrojen peroksidin 2 molekül su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize etmektedir. Karaciğer, eritrosit, böbrek ve yağ dokusunda yüksek aktiviteye sahip iken kalp ve beyin dokusunda azdır. Kalpteki katalaz aktivitesi insan, fare ve rat karaciğerindeki aktivitenin ancak %2'sidir (220).

SOD, süperoksid anyonunun hidrojen peroksid ve oksijene dismutasyonun katalize eden bir metaloenzimdir. Fe-SOD prokaryositlerde, Cu/Zn SOD ökaryositlerin nükleus ve sitozollerinde, Mn-SOD ise hem ökaryosit hem de prokaryositlerde özellikle mitokondrilerde bulunur. SOD normalde aerobik organizmaların yaşamı için koruyucu bir enzimdir. Zn, Cu gibi metaller SOD aktivasyonu ve hidroksil radikalleri arasındaki ilişkilerde önemli bir rol oynamaktadır (219).

Gpx, organik peroksitleri ve redükte GSH'ı su ve okside-GSH'a dönüşümünü katalize eder. Sonuç olarak serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun hücreye verdiği zararı azaltmaktadır (220). Dabrowski ve arkadaşları sıçanlarda serulein-indüklü pankreatitin erken evresinde pankreatik GSH'da bir azalma gösterebilmişlerdir

Lokal doku zedelenmesine inflamatuvar yanıt olarak NF- κ B, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, trombosit aktive edici faktör, monosit kemoatraktan sitokin, hücre içi adezyon molekülleri açığa çıkar ve kompleman aktive olur. Bu inflamatuvar mediatörlerin artışı böbrek ve akciğer gibi diğer organları da etkileyerek multi-organ yetersizliğine de yol açarak mortaliteyi arttırabilmektedir (4-11).

Sitokinler ve akut pankreatit üzerine günümüzdeki görüşler Brady ve ark (221) ile Schmid ve Adler (222) tarafından derlenmiştir. Akut pankreatitte enflamatuvar cevabın bir

aday mediyatörü transkripsiyon faktörü nükleer faktör-kB (NF-kB)'dir. NF-kB aktivasyonunun asiner hücreler içersinde deneysel akut pankreatit seyrinde erken dönemde olduğu ve sitokinler ve kemokinlerin ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, pankreatit başlangıcı esnasında NF-kB'nin spesifik rolü günümüzde henüz bilinmemektedir(223).

IL-6; fibrinojen, serum amiloid A ve CRP gibi akut-faz proteinlerinin sentezinin temel bir sitokin mediyatörüdür. Serumdaki IL-6 düzeylerinin kabulden sonraki 24 saat içersinde akut pankreatitin hafif ve şiddetli atakları arasındaki ayrımı yaptığı rapor edilmiştir. Serum ve idrar düzeyleri ilk 48 saat içersinde pik yapar ve pankreatik nekroz, pankreatik abse veya enfekte nekroz gelişmediği takdirde hızlıca azalır. (63,69,70).

Ağırlıklı olarak makrofaj-derive bir sitokin olan TNF- α 'nın yaralanma ve sepsise karşı fizyopatolojik cevapların çoğuna aracılık etmede temel bir rol oynar (63,71). Serum TNF- α düzeyleri ve akut pankreatit şiddeti arasında bazı ilişkiler mevcuttur (71). Bununla birlikte akut pankreatit şiddetini tahmin etmede TNF- α değeri herhangi bir geniş ölçekli karşılaştırmalı çalışmalarla değerlendirilmemiştir.

IL-8; TNF- α uyarımlı nötrofil aktivasyonunun başlıca sekonder mediyatörüdür (71). Çeşitli çalışmalarda bunun akut pankreatit seyrinde yükseldiği gösterilmiştir (70-73) ve klinik sonuçla ilişkili olduğu da gösterilmiştir.

IL-1; bir proenflamatuvar sitokindir ve belirgin olarak makrofajlardan salınmaktadır ve ateş, hipotansiyon ve anoreksiye neden olmaktadır. IL-1 uygulanmasından sonraki klinik semptomlar TNF-alfa tedavisinden sonrakine benzemektedir ve bunu ayırt etmek zordur. Etkiler olasılıkla nötrofil aktivasyonu, lökositler üzerinde ve aynı zamanda da endotelial hücrelerüzerinde adeyon moleküllerinin artışı nedeniyledir.

Pankreatitte sitokin etkisinin intrasellüler yolaklarını aydınlatmak için yeni yaklaşımlara başlanmıştır. Bir hipotez TNF- α ve IL-6'nın p38/MK2 yolağı ile düzenlendiğini belirtmektedir. Serulein-indüklü pankreatit modeli kullanarak MK2 knockout fareler kontrol hayvanlarına kıyasla çok azalmış IL-6 ve TNF- α serum düzeyleri ve pankreatite karşı inflamatuvar hücrelerin eksikliği ile birlikte belirgin bir histolojik koruma göstermişlerdir (224).

Çalışmamızda histopatolojik olarak akut pankreatit bulguları ortaya çıkması ile birlikte MDA ve H₂O₂ düzeyleri artışı akut pankreatit patogenezinde serbest oksijen metabolizmasının ve lipid peroksidasyonunun rolünü göstermektedir. Ancak sitokinler ve

koruyucu enzimlerde değişiklik olmaması kullanılan arginin dozu, nekroz derecesi, dokuda bakılması, analizlerin süresi ve koruyucu enzimlerde başlangıçta ortaya çıkan artışla ilişkili olabilir. Arginin yüksek dozlarda daha çok nekrotizan pankreatit meydana getirdiği için ödematöz dönemlerde koruyucu enzimler ve sitokinlerin rolü olabilir (225,226).

Szabolcs ve ark. (20) arginin dozunu 3.2 g/kg kullanmışlar ve nekrotizan pankreatit meydana gelirken MDA, SOD, IL-6, katalaz düzeylerinde artış saptamışlardır. Bizim çalışmamıza benzer bir çalışmada 5 g/kg arginin kullanımı sonrasında özellikle çalışmanın 8.ci saatinde IL-6 ve NF-kB düzeyleri artmıştır (227).

Amifostin fosforlu aminotiyol grubu içeren bir ön ilaçtır ve dokuda membrana bağlı alkalin fosfataz enzimi ile defosforile edilerek farmakolojik olarak aktif olan serbest tiyol metaboliti (WR-1065) açığa çıkar. Bu amifostinin major sitoprotektif metabolitidir. WR-1065'in oksidasyonu ile amifostinin bazı klinik ve farmakolojik özelliklerinden sorumlu olan simetrik disülfid yapıda WR-33278 oluşur (151). Yapılan çalışmalar normal dokuların özellikle kapiller seviyede olmak üzere daha fazla alkalin fosfataza sahip olduklarını göstermiştir (153,154). Alkalin fosfataz enziminin kapiller endoteldeki lokalizasyonu amifostinin serbest tiyole dönüşüp normal dokular içine lokal olarak hızlı bir şekilde alımını artırır (155). Bir serbest oksijen radikal temizleyicisi olan amifostinin akut pankreatitte kullanımına ilişkin hiçbir deneysel ve klinik çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda L-arginin ile birlikte amifostin verildiğinde kontrol gurubuna göre GSH ve katalaz düşük iken H₂O₂ düzeyleri yüksekti. Ancak MDA düzeyleri kontrol gurubundan farklı değildi ve MDA düzeylerini azaltan tek gurup idi. Yani MDA düzeylerini düşürmüştü. L-arginin gurubu ile kıyaslandığında da MDA düzeyleri anlamlı derecede düşük saptandı. Ancak katalazın düşüklüğü açıklanamadı. Bu guruptaki sonuçlar benzer bir yayın olmadığı için karşılaştırılmadı. Ancak amifostinin antineoplastik ilaçların toksisitesinden MDA düzeylerini azaltarak ve koruyucu enzimleri artırarak etkide bulunduğu çeşitli deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (228,229).

Somatostatin ve oktreoidin ekzokrin pankreas sekresyonlarında doza bağımlı azalma yapması bunların terapötik seçenekler olarak araştırılmasını tetiklemiştir. AP'de somatostatin ve oktreoidin diğer kabul edilmiş etki mekanizmaları artmış hepatik ve RES aktivitesidir. Deneysel AP'li hastalarda sağ kalım oranının glukagon ile RES'in fagositik aktivitesinin stimülasyonu ile iyileştirilebileceği gösterilmiştir (168,169). AP'de vazokonstiksiyon ve pankreatik hipoperfüzyon etkisinin geri döndürülmesi ile immün ve sitokin cevabının

düzenlenmesi sitoprotektif ve organoprotektif etki asitin azaltılmasıyla üçüncü-sıvı sekestrasyonunun azaltılması ve intestinal dilatasyon da aynı zamanda AP'de somatostatin ve oktreotidin faydalı etkilerine katkıda bulunmaktadır (170-172). Deneysel AP üzerine oktreotidin etkileri ile ilgili ilk çalışma Baxter ve ark. (173) tarafından yapılmıştır. Bunlar safranin pankreasa geri akmasına neden olacak şekilde sıçan safra kanalının ligasyonu ile hastalık uyarımı yapmışlardır. Tripsin ile doyurulmuş taurokolatın intraduktal uygulandığı modelde tek doz subkütan oktreotid enjeksiyonlarının etkisi sıçanlarda değerlendirilmiştir (174). Delany ve ark. (175) sıçanlarda travmatik pankreatit üzerine intravenöz oktreotid uygulanmasının etkilerini incelemişler ve bu tedavinin azalmış mortalite oranları ile birliktelik gösterdiğini saptamışlardır.

Çalışmamızda L-arginin ile oktreotid verildiğinde kontrol gurubuna kıyasla H₂O₂, MDA ve SOD düzeyleri artarken katalaz düzeyleri düşüktü. L-arginin gurubu ile sonuçlar karşılaştırıldığında SOD düzeylerinde artış ile katalaz düzeylerindeki düşüklük anlamlı olarak farklı idi. SOD düzeylerindeki artış koruyuculuk anlamında önemli iken diğer bir koruyucu enzim olan katalaz düzeyindeki düşüklük açıklanamadı.

Oktreotidin deneysel akut pankreatitten koruyuculuğu genellikle taurokolat, cerulein, tripsin ve safra infüzyonu, cerrahi olarak safra yolu ligasyonu ile araştırılmış ve bu çalışmaların çoğunda yararlı bulunmuştur (230-232)

Oktreotidin lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikallerine etkisi üzerindeki çalışmalar sınırlıdır. Lipid peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikallerini arttırdığı sepsisli ratlarda (233) ve monositlerde (234) gösterilmiştir.

Oktreotidin cerulein ve deoksikolatla oluşturulan akut deneysel pankreatiti önlemek amacıyla erken bolus uygulaması ile MDA düzeylerini azalttığı, SOD ve Gpx düzeylerini arttırdığı saptanmıştır (21). Benzer bir çalışmada yüksek doz oktreotid taurokolatla oluşturulan akut hemorajik pankreatitte MDA düzeylerini azaltırken Gpx düzeylerini arttırmıştır (235)

Ratlarda sodium taurokolat ile oluşturulan akut pankreatit modelinde baicain ve oktreotidin serum MDA düzeylerinde anlamlı düşüşe neden olduğu, TNF- α değerlerinde değişme olmadığı gösterilmiştir (236)

Sodium taurokolat ile tavşanlarda oluşturulan akut pankreatit modelinde profilaktik oktreotid tedavisinin sitokin salınımını engellediği, MDA'da artış, GSH, SOD, GPx ve

katalaz aktivitelerinde azalma sağladığı, amilaz düzeylerini düşürmediği ve histopatolojik düzelme ya da gerilemeye neden olmadığı saptanmıştır (237)

Bortezomib, dipeptidil boronik asit, memeli hücrelerinde proteozomun potent, selektif ve geri dönüşümlü bir inhibitörüdür (176). Proteozom inhibisyonu, nükleer faktör- κ B (NF- κ B)'yi bunun inhibitör alt biriminin I κ B'nin proteolizini engelleyerek bloke eder. NF- κ B aktivasyonunun engellenmesi daha sonra NF- κ B bağımlı proenflamatuvar gen ekspresyonunu azaltır ve bu da azalmış inflamatuvar yanıt ile sonuçlanır. Bununla birlikte çalışmalarda aynı zamanda pro-inflamatuvar yolların major başlatıcılarından biri olan NF- κ B'nin inflamasyonun çözülmesinde anti-inflamatuvar rollere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle inflamasyonun çözülmesi sırasında NF- κ B'nin inhibisyonunun in vivo şartlarda inflamatuvar yanıtın süresini uzattığı gösterilmiştir (184). Bortezomibin akut pankreatitte kullanıldığına dair hiçbir deneysel ve klinik çalışma olmamasına rağmen peptid aldehyd proteozom inhibitörü olan MG132 bir deneysel akut pankreatit modelinde kullanılmış ve olumlu yanıtlar elde edilmiştir (191).

Bu çalışmada bortezomib ile birlikte L-arginin kullanımı kontrol grubuna göre MDA, SOD ve H₂O₂ düzeylerini arttırmakta ve katalaz, GSH ile IL-6 düzeylerini azaltmaktadır. SOD düzeyini arttırması ve IL-6 düzeylerinin azaltılması koruyucu olabilir ancak katalaz düzeylerinde azalma ters yönde etkili olup açıklanamamıştır. L-arginin kullanılan ratlarla karşılaştırıldığında ise yalnızca katalaz düzeyi daha düşük bulunmuştur. Literatürde bu yönde çalışma olmadığı için bu konu tartışılmamıştır. Ancak L-arginin indüklediği akut pankreatit modelimizde MDA ve serbest oksijen radikallerini etkili olduğu görülmektedir. IL-6 inhibisyonu ise bortezomibin doğal etki mekanizması olarak görülmektedir.

E vitamininin önemli bir özelliği antioksidan etkinliğinin olması nedeniyle peroksidleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesidir (193). Serbest oksijen radikalleri oluşmasının eşlik ettiği olaylar zincirini membranda önleyen ve oluştuğunda nötralize eden en güçlü antioksidan E vitamindir. Bütün hücre membranlarının lipitleri serbest radikaller tarafından oksidasyona maruz kalarak yıkılırlar. Alfa-tokoferol bu yıkım reaksiyon zincirini engeller ve serbest radikalleri durdurur. E vitamini, hücre ve organellerin membran lipitleri üzerindeki bu etkisi nedeniyle membranları oksidatif zedelenmeye karşı korur. Böylece genel olarak membran stabilitesini sağlar (195). Plasebo ile antioksidan tedavileri karşılaştıran bir klinik çalışmada bir gruba plasebo, diğer gruba selenyum, vitamin A, vitamin C, vitamin E ve methionin verilmiş, antioksidan tedavi verilen grupta plaseboya göre biyokimyasal parametrelerde

anlamli düşme saptanmiş ve bunun nedeni olarak serbest oksijen radikallerinin pankreas dokusuna zarar verici etkilerinin azaltılması gösterilmiştir (198). Ratlarda cerulein ile oluşturan akut pankreatit modelinde plazmada vitamin E düzeyi azalırken, pankreas dokusunda arttığı ve pankreas dokusundaki oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (199).

Biz E vitamini ile L-arginin uygulanan ratlarda kontrol gurubuna kıyasla GSH düzeyini azalttığı ve MDA ile H₂O₂ düzeylerini arttırdığını, L-arginin gurubu ile ise hiçbir farklılık oluşturmadığını saptadık.

C vitamini monosakkaritlere benzeyen 6 karbonlu enediol yapısında lakton şeklinde bir asittir. C vitamini bir hidrojen atomunu verdiği zaman oldukça kararlı-stabil olan askorbil radikaline dönüştüğü için oldukça güçlü bir antioksidan olarak bilinmektedir. C vitamininin nitrojen oksit türleri, singlet oksijen, hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve süperoksit radikaline karşı oldukça etkili olduğu görülmüştür (200).

Cerulein ile indüklenen deneysel akut pankreatit modelinde melatonin, askorbik asit ve N-asetil sisteinin pankreas ve karaciğerde MDA seviyelerini azalttığı, katalaz ve Gpx seviyelerini arttırdığı saptanmıştır (238).

İntraperitoneal L-arginin indüklediği deneysel akut pankreatitte daha önceden n-asetilsistein, selenyum ve C vitamini kombinasyonu kullanarak yapılan bir çalışmada hastalık seyrinin erken döneminde uygulandığında pankreatik yaralanmayı azalttığı ortaya konulmuştur (201). Akut pankreatitli 85 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada C vitamininin oksidatif stresi azaltarak hastaların iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (202).

Bu çalışmada C vitaminiyle birlikte uygulanan L-arginin kontrol gurubuna göre katalaz düzeylerini azaltmış, SOD, MDA ve H₂O₂ düzeylerini arttırmıştır. L-arginin gurubuna kıyasla ise MDA dışındaki istatistiksel anlamlı farklılık SOD artışı, katalaz ve H₂O₂ azalması bakımındadır.

Deneysel bir çalışmada ratlara C vitamini ile birlikte N-asetil sistein ceruleininin indüklediği akut pankreatitte kullanılmış ve MDA düzeylerini azaltıp, katalaz, Gpx, SOD ve GSH düzeylerini arttırarak yararlı olmuştur (19). Benzer bir çalışmada da ceruleininin indüklediği akut pankreatitte C vitamini ve N-asetil sistein karışımının MDA düzeylerini azalttığı katalaz ve Gpx düzeylerini arttırdığı saptanmıştır (52).

Bizim çalışmamızda gerek guruplar arasında gerekse de L-arginin öncesi ve çalışma sonrasındaki lipaz ve amilaz düzeylerinde her ne kadar bir artış olsa da bu istatistiksel olarak

anlamlı bir fark bulunmadı. Bu arginin dozu, sakrifikasyonun süresi ve nekroz derecesi ile ilişkili olarak ortaya çıkmış olabilir.

Kullanılan ilaçlar karşılaştırıldığında; E vitamini katalaz düzeyini düşürmeyerek sitoprotektif etki yaratabilir çünkü bu guruptaki katalaz düzeyleri diğer guruplarda kontrol gurubuna göre çok düşük ve yalnızca bu gurupta kontrol gurubundan farksız idi. C vitamini oktretid ile birlikte hem SOD düzeylerini arttırarak, H₂O₂ düzeylerini azaltıp, hem de GSH düzeylerini düşürmeden (kontrol gurubundan farklı olmayan düzeylerde) sitoprotektif etki ortaya çıkarabilir. Amifostin ise MDA düzeylerini ve dolayısıyla lipid peroksidasyonunu azaltarak etki göstermiştir. Bortezomib ise SOD düzeylerini arttırarak ve IL-6 düzeyini azaltarak etki göstermiş ancak tüm ratlar ölmüştür. Bunun çalışmada kullanılan bortezomib dozunun yüksekliği ile ilişkili olması olasıdır. Ancak bu konuda bir çalışma olmadığı için doz konusunda da bir belrileycilik olamamış ancak ileride yapılacak doz çalışmaları bunu düzenleyebilecektir. Oktretid ise C vitamini gibi hem SOD düzeylerini arttırarak hem de GSH düzeylerini düşürmeden (kontrol gurubundan farklı olmayan düzeylerde) etkide bulunmaktadır.

Çalışmamızda pankreas dokusu histopatolojik olarak değerlendirildiğinde L-arginin pankreas dokusunda ödem, inflamasyon, nekroz ve NF-κB ekspresyonuna yol açarak toplam patolojik skoru arttırdı.

Çeşitli deneysel çalışmalarda da L-arginin ödem, hücre infiltrasyonu ve nekrozla sonuçlanan histopatolojik değişikliklere yol açmıştır (20,22, 56, 229)

Hegyi ve ark. (119) sıçanlarda L-arginin indüklediği modelin erken ve geç fazlarını karakterize etmişlerdir. Akut pankreatitin erken fazı lökositlerin intersellüler ödem infiltrasyonu, kapiller dilatasyon ve mikrofokal parankim nekrozu ile birlikte akut pankreatik enflamasyon ile karakterizedir. İlk haftanın sonunda belirgin adipoz doku depolanması görülmüştür. Adipoz doku çoğalması etkilenmiş alanlarda atrofinin bir endikasyonudur ve etkilenmemiş alanlarda hipertrofi ve hiperplaziyi yansıtabilir.

Yüksek dozlarda L-arginin uygulanması serum amilaz aktivitesindeki önemli yükselme, pankreas ödemi ve lipid peroksidasyon belirteci MDA'nın artmış düzeyleri ile doğrulanmıştır. Pankreasda pro-enflamatuvar sitokin interlökin-6'nın artmış miktarı ve önemli ölçüde yüksek MPO aktivitesi enflamatuvar sürecin başlamasını dökümanete etmektedir (119).

Çalışmamızda kullanılan ilaçlar histopatoloji ile birlikte değerlendirildiğinde; E vitamini ve amifostin verildiğinde yalnız L-arginin verilen guruba göre herhangi bir histopatolojik koruma gözlenmedi. Değerlendirilen beş parametre de kontrol gurubundan E vitamini ve amifostin guruplarında belirgin yüksekti. C vitamini gurubunda ise toplam skor, nekroz ve hücre infiltrasyonu kontrol gurubundan farklı değildi ancak ödem ve NF-κB boyanması anlamlı derecede artmıştı. Ancak en önemli koruma bortezomib ve oktreotid verilen guruplardaydı ve kontrol guruplarına göre toplam ve ödem skorları fazlaydı, inflamasyon, nekroz ve NF-κB boyanmaları farklı değildi. Bu iki gurup diğer guruplarla da karşılaştırıldığında inflamasyon, nekroz ve NF-κB boyanmaları açısından daha düşük skorlara sahipti.

Oktreotid bazı deneysel çalışmalardaki pankreatit modellerinde histopatolojik olarak pankreastaki zararlanmayı azaltmıştır (21,32,239,240,241)

C vitaminin de n-asetil sistein ve melatoninle birlikte uygulandıklarında pankreasta histopatolojik olarak sitoproteksiyona neden olduğu her ne kadar sınırlı sayıda da olsa gösterilmiştir (52,238).

E vitamini, amifostin ve bortezomibin akut pankreatitten deneysel olarak akut pankreatitten koruyuculuğu ve pankreas dokusunda yaptığı histopatolojik değişiklikler ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır.

ÇIKARIMLAR

1-L-arginin indüklediği deneysel akut pankreatiti modelinde H₂O₂, MDA düzeyleri ve NF-κB artarken, sitokinler ve diğer serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimlerin düzeyinde bir değişiklik ortaya çıkmadı.

2-Histopatolojik olarak akut pankreatit bulguları ortaya çıkması ile birlikte MDA ve H₂O₂ düzeyleri artışı akut pankreatit patogenezinde serbest oksijen metabolizmasının ve lipid peroksidasyonunun rolünü göstermektedir. Ancak pankreas enzimleri, sitokinler ve koruyucu enzimlerde değişiklik olmaması kullanılan arginin dozu, nekroz derecesi, dokuda bakılması, analizlerin süresi ve koruyucu enzimlerde başlangıçta ortaya çıkan artışla ilişkili olabilir. Arginin yüksek dozlarda daha çok nekrotizan pankreatit meydana getirdiği için ödematöz dönemlerde koruyucu enzimler ve sitokinlerin rolü olabilir.

3-Amifostin MDA düzeylerini düşürerek lipid peroksidasyonunu azalttı.

4-Oktreotid SOD düzeylerini arttırdı ve GSH düzeylerini düşürmedi.

5-Bortezomib SOD düzeylerini arttırıp IL-6 düzeylerini azalttı.

6-E vitamini katalaz düzeyini düşürmeyen tek ilaç idi.

7-C vitamini SOD düzeylerini arttırdı ve GSH düzeylerini düşürmedi.

8-Kullanılan ilaçlar karşılaştırıldığında E vitamini katalaz düzeyini düşürmeyerek sitoprotektif etki yaratabilir çünkü bu gruptaki katalaz düzeyleri diğer gruplarda kontrol gurubuna göre çok düşük ve yalnızca bu grupta kontrol gurubundan farksız idi. C vitamini ve oktreotid hem SOD düzeylerini arttırarak, hem de GSH düzeylerini düşürmeden (kontrol gurubundan farklı olmayan düzeylerde) sitoprotektif etki ortaya çıkarabilir. Amifostin ise MDA düzeylerini ve dolayısıyla lipid peroksidasyonunu azaltarak etki göstermiştir. Bortezomib ise SOD düzeylerini arttırarak ve IL-6 düzeyini azaltarak etki göstermiş ancak tüm ratlar ölmüştür. Bunun çalışmada kullanılan bortezomib dozunun yüksekliği ile ilişkili olması olasıdır. Ancak bu konuda bir çalışma olmadığı için doz konusunda da bir belirleyicilik olamamış ancak ileride yapılacak doz çalışmaları bunu düzenleyebilecektir.

9- Histopatolojik olarak L-arginin pankreas dokusunda ödem, inflamasyon, nekroz ve NF-κB ekspresyonuna yol açtı.

10-Kullanılan ilaçlar histopatolojik olarak karşılaştırıldığında; E vitamini ve amifostin verildiğinde yalnız L-arginin verilen guruba göre herhangi bir histopatolojik koruma gözlenmedi.

11-C vitamini ile nekroz ve hücre infiltrasyonu kontrole göre farksızdı.

12-Bortezomib ve oktreotid ile inflamasyon, nekroz ve NF- κ B boyanmaları kontrole göre farklı değildi. Aynı zamanda inflamasyon ve nekroz diğer guruplardan daha azdı.

SONUÇLAR

L-arginin ödem, inflamasyon ve nekroza yol açarak akut pankreatite neden olmakta ve serbest oksijen radikallerini, lipid peroksidasyonunu ile NF-κB artışına yol açmaktadır.

Amifostin lipid peroksidasyonu azaltmasına rağmen patolojik olarak pankreas dokusunda koruyucu etkisi yoktu. E vitamini katalaz düzeylerini düşürmeyen tek ilaç iken pankreas üzerine etkinliği yoktu. C vitamini GSH düzeyini hem düşürmeden hem de SOD artışına yol açarak nekroz ve hücre infiltrasyondan pankreası korumaktaydı. Oktreotid SOD düzeylerini arttırıp, NF-κB'yi değiştirmeden, GSH düzeylerini düşürmeyerek pankreatik inflamasyon ve nekrozdan koruyucu idi. Bortezomib ise SOD düzeylerini arttırıp IL-6 düzeylerini azaltarak ve NF-κB'yı değiştirmeden nekroz ve hücre infiltrasyonundan pankreası korudu.

ÖZET

Giriş: Akut pankreatitin patogenezinde en önemli faktör tripsinojenin uyarılması ve tripsine dönüşümüdür. Bunun yanı sıra serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun uyarımı, nükleer faktör kappa B (NF-κB) ile tümör nekroz faktör-α (TNF-α) ve çeşitli interlökinlerin (IL) rol oynamaktadır.

Amaç: L-Arginin ile oluşturulan akut pankreatit patogenezinde serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonu, koruyucu enzimler, sitokinler ve NF-κB'nin rolü ile amifostin, bortezomib, oktrotid, E ve C vitaminlerinin akut pankreatiti önlemedeki rolü araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Hayvan etik kurulu alınan ve Adnan Menderes Üniversitesi fonundan kısmen destek alınan bu çalışmaya ağırlıkları 246±35 g olan 47 dişi Wistar rat çalışmaya alınarak 7 guruba ayrıldı. 1.guruba (kontrol) intra-peritoneal (ip) serum fizyolojik, 2.guruba ip. 5 g/kg L-arginin, 3.guruba ip. 200 mg/kg E vitamininden 30 dk. sonra 5 g/kg L-arginin, 4.guruba ip. 200 mg/kg C vitamininden 30 dk. sonra 5 g/kg L-arginin,, 5.guruba ip. 200 mg/kg amifostinden 30 dk. sonra 5 g/kg L-arginin 6.guruba ip. 1 mg/kg bortezomibden 30 dk. sonra 5 g/kg L-arginin, 7.guruba 5 g/kg L-argininden 30 dk önce, 30, 270 ve 510 dk. sonra SC okterotid verildi. Çalışma öncesi ve sonrası kuyruk veninden spektrofotometrik olarak pankreas enzimleri lipaz ve amilaz düzeylerine bakıldı. Son enjeksiyondan 24 saat sonra servikal dislokasyondan ile tüm ratlar öldürüldü. Daha sonra SF ile yıkanan pankreas tam olarak ikiye bölünecek yarısı patolojik olarak incelemek diğer yarısı da hidrojen peroksid (H₂O₂), total glutatyon (GSH), serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimler olan katalaz, süperoksid dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (Gpx) ile lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehid (MDA) spektrofotometrik, IL-6, TNF-α ve IL-1β ELISA yöntemi ile çalışılmak için -80 °C 'de analizlerin yapılacağı güne kadar saklandı ve homojenize edilerek incelendi. Pankreas dokusunun diğer yarısında ise uygun skorlama sistemleri ile inflamasyon, ödem, nekroz ve immunhistokimyasal olarak NF-κB boyanması histopatolojik olarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Sonuçlar istatistiksel olarak SPSS 13.0 programında Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleriyle karşılaştırıldı. p<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Pankreas enzimleri bakımından çalışma öncesi/sonrası ile gruplar arasında fark bulunmadı (p>0.05). TNF-α, IL-1β ve Gpx açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0.05). L-arginin kontrol gurubuna göre H₂O₂ (p<0.005) ve MDA (p<0.05) düzeyleri ile NF-κB'yi (p<0.005) arttırdı. MDA düzeyleri yalnızca L-arginin+amifostin gurubunda kontrol

gurubundan farklı değildi ($p>0.05$). Kontrol gurubuna göre SOD düzeylerini oktreotid ($p<0.005$), C vitamini ($p<0.001$) ve bortezomib ($p<0.05$) yükseltti. C vitamini ve oktreotid ile L-arginin verilen iki grupta GSH kontrol gurubundan düşük değildi ($p>0.05$). Yalnızca E vitamini+L-arginin gurubunda katalaz gurupları kontrol gurubuna göre düşük değildi ($p>0.05$) ancak pankreas dokusunda koruyucu etkisi saptanmadı. Bortezomib IL-6 düzeylerini ($p<0.05$) azaltırken kontrol gurubuna NF- κ B'yi değiştirmede ($p>0.05$). Histopatolojik olarak L-arginin pankreas dokusunda kontrol gurubuna göre ödem ($p<0.001$), inflamasyon ($p<0.05$), nekroz ($p<0.005$) ve toplam patolojik skoru ($p<0.005$) arttırdı. E vitamini ve amifostin yalnız L-arginin verilen guruba göre herhangi bir histopatolojik koruma oluşturmadı ($p>0.05$). L-arginin+C vitamini gurubunda nekroz ve hücre infiltrasyonu kontrole göre farksızdı ($p>0.05$). Bortezomib ve oktreotid ile inflamasyon, nekroz ve NF- κ B boyanmaları kontrole göre farklı değildi ($p>0.05$). Aynı zamanda inflamasyon, nekroz ve diğer guruplardan daha azdı ($p<0.005$ ve 0.01).

Sonuçlar: L-arginin serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonu ve NF- κ B artışına yol açarak pankreasta ödem, hücresel inflamasyon ve nekroza yol açmaktadır. Amifostin lipid peroksidasyonunu baskılamakta ancak hücresel düzeyde sitoprotektif olmamaktadır. C vitamini koruyucu enzimleri arttırarak hücresel inflamasyon ve nekrozu önlemektedir. Bortezomib hem sitoprotektif olarak, hem de IL-6 ve NF- κ B inhibisyonu ile hücresel inflamasyonu ve nekrozu azaltmaktadır. Oktreotid ise hem sitoprotektif hem de NF- κ B inhibisyonu ile hücresel inflamasyon ve nekrozdaki pankreas dokusunu korumaktadır.

SUMMARY

Introduction: The most important factor in the pathogenesis of acute pancreatitis is the stimulation of the trypsinogen and conversion of it to the trypsin. Moreover stimulation of the lipid peroxidation, free oxygen radicals and nuclear factor kappa (NF- κ B), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), and various interleukins may play role in the pathogenesis.

Aim: We investigated the roles of the free oxygen radicals, lipid peroxidation, protective enzymes, cytokines and NF- κ B on the pathogenesis of the L-arginine induced acute pancreatitis and the roles of the amiphostine, bortezomib, octreotide, and vitamin E and C on the prevention of acute pancreatitis.

Materials and methods: Animal ethic committee approval was received. Study was partially supported by Adnan Menderes University funds. 47 Wistar type adult female rats were enrolled to the study. The rats with mean weight of 246 ± 35 g were divided to 7 groups. Serum saline was given to the first (control) group intraperitoneally (ip), 5 g/kg L-arginine was given to the second group, 5 g/kg L-arginine 30 minutes after i.p. 200 mg/kg vitamin E was given to the third group, 5 g/kg L-arginine 30 minutes after ip. 200 mg/kg vitamin C was given to the fourth group, g/kg L-arginine 30 minutes after ip. 200 mg/kg amiphostine was given to the fifth group, 5 g/kg L-arginine 30 minutes after ip. 1 mg/kg bortezomib was given to the sixth group, sc octreotide was given to the seventh group 30 minutes before 5 g/kg L-arginine and 30, 270 and 510 minutes after 5 g/kg L-arginine. The levels of pancreatic enzymes such as lipase and amylase were evaluated from tail vein spectrophotometrically before and after study. All animals were sacrificed by cervical dislocation 24 hours after last injection. Then pancreas was washed with serum saline and then divided into two parts. One part of them was used for pathological examination and the other part was saved in the -80°C until analysis for the examination with spectrophotometrically method of hydrogen peroxide (H_2O_2), total glutatyon (GSH), protective enzymes from free oxygen radicals including catalase, superoxide dismutase (SOD), glutatyon peroxidase (Gpx), malondialdehyde (MDA), marker of lipid peroxidation, and for the examination with ELISA of IL-6, TNF- α and IL-1 β . After making homogeneity, they were examined. In the first part of the pancreatic tissue, histopathologically inflammation, edema, necrosis with appropriate scoring systems, and immunohistochemically NF κ B staining were examined under light microscopy. Results were compared with the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests using SPSS 13.0 and. Values less than $p<0.05$ were accepted as significant.

Results: There was no difference for pancreatic enzymes between before and after study and groups ($p>0.05$). The levels of TNF- α , IL-1 β and Gpx were not different between groups ($p>0.05$). L-arginine increased the levels of H₂O₂ ($p<0.005$), MDA ($p<0.05$), and NF- κ B ($p<0.005$) compared to the control group. MDA levels in only L-arginine+amiphostine group were not different from the control group ($p>0.05$). When compared with the control group, octreotide ($p<0.005$), vitamin C ($p<0.001$), and bortezomib ($p<0.05$) increased SOD levels. The GSH levels in L-arginine+vitamin C and L-arginine+octreotide groups were not lower than the control group ($p>0.05$). Catalase levels only in L-arginine+vitamin E group was not lower than the control group ($p>0.05$), but the its protective effect in pancreatic tissue was not detected. While bortezomib decreased IL-6 levels ($p<0.05$), it didn't change NF- κ B compared to the control group ($p>0.05$). Histopathologically, L-arginine increased the edema ($p<0.001$), inflammation ($p<0.05$), necrosis ($p<0.005$), and the total pathologic score in pancreatic tissue, compared to the control group. Vitamin E and amiphostine did not produce any histopathologic protection, compared to the L-arginine group ($p>0.05$). In L-arginine+vitamin C group, necrosis and cellular infiltration were not different from controls ($p>0.05$). With the bortezomib and octreotide, inflammation, necrosis, and NF- κ B staining were not different from the controls ($p>0.05$). Also, inflammation, necrosis was lower than other groups ($p<0.005$ and 0.01 , respectively).

Conclusion: L-arginine leads to edema, cellular inflammation, and necrosis by increasing free oxygen radicals, lipid peroxidation, and NF- κ B. Although amiphostine inhibits lipid peroxidation, it had no cytoprotective effect at cellular level. Vitamin C prevented cellular inflammation and necrosis by increasing protective enzymes. Bortezomib decreases cellular inflammation and necrosis by both cytoprotectively and inhibiting the IL-6 and NF- κ B. Octreotide prevents pancreatic tissue from cellular inflammation and necrosis by both cytoprotection and inhibition of the NF- κ B.

KAYNAKLAR

- 1-Kasper DL, Braunwald E, Fauci SA, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Harrison's Manual of Medicine. New York: McGraw-Hill Co, 2005; 753-756.
- 2-Toouli J, Brooke-Smith M, Bassi C, Carr-Locke D, Telford J, Freeny P. Guidelines for the management of acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17:15-39.
- 3-David J.C. Shearman, Niall D.C. Finlason. Diseases of the gastrointestinal tract and liver 1989; 1067-1083.
- 4-Felderbauer P, Muller C, Bulut K. Pathophysiology and treatment of acute pancreatitis: new therapeutic Arginine salts a ray of hope? *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97: 342-350.
- 5-Makhija R., Kingsnorth AN.: Cytokine storm in acute pancreatitis. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 2002; 9: 401-410.
- 6-Pandol SJ. Acute pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 481-486.
- 7-Satoh A, Gukovskaya AS, Edderkaoui M. Tumor necrosis factor alpha mediates pancreatitis responses in acinar cells via protein kinase C and proline-rich tyrosine kinase 2. *Gastroenterology* 2005; 129: 639-651.
- 8-Schafer C, Tietz AB, Goke B. Pathophysiology of acute experimental pancreatitis: lessons from genetically engineered animal models and new molecular approaches. *Digestion* 2005; 71: 162-172.
- 9-Gukovsky I., J. H. Cheng, K. J. Nam, O. T. Lee, A. Lugea, L. Fischer, J. M. Penninger, S. J. Pandol, A. S. Gukovskaya: Phosphatidylinositol 3-kinase gamma regulates key pathologic responses to cholecystokinin in pancreatic acinar cells. *Gastroenterology* 2004; 126: 554-566.
- 10-Granger J, Remick D. Acute pancreatitis: models, markers, and mediators. *Shock* 2005; 24: 45-51.
- 11-Matheus AS, Coelho AM, Sampietre S, Patzina R, Jukemura J, Cunha JE, Machado MC. Effect of inhibition of prostaglandin E2 production on pancreatic infection in experimental acute pancreatitis. *HPB* 2007; 9: 392-397.
- 12-Rau B, Poch B, Gansauge F, Bauer A, Nussler AK, Nevalainen T. Pathophysiologic role of oxygen free radicals in acute pancreatitis: initiating event or mediator of tissue damage? *Ann Surg* 2000; 231: 352-360.
- 13-Braganza JM, Scott P, Bilton D, Schofield D, Chaloner C, Shiel N. Evidence for early oxidative stress in acute pancreatitis. Clues for correction. *Int J Pancreatol* 1995; 17: 69-81.

- 14-Su KH, Cuthbertson C, Christophi C. Review of experimental animal models of acute pancreatitis. *HPB* 2006;8:264-286.
- 15-Schoenberg MH, Buchler M, Gaspar M, Stinner A, Younes M, Melzner I. Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. *Gut* 1990;31:1138-1143.
- 16-Nonaka A, Manabe T, Kyogoku T, Tamura K, Tobe T. Changes in lipid peroxide and oxygen radical scavengers in cerulein-induced acute pancreatitis. Imbalance between the offense and defense systems. *Digestion* 1990;47:130-137.
- 17-Genovese T, Mazzon E, Di Paola R, Muia C, Crisafulli C, Menegazzi M, Malleo G, Suzuki H, Cuzzocrea S. Hypericum perforatum attenuates the development of cerulein-induced acute pancreatitis in mice. *Shock* 2006;2:161-167.
- 18-Shi C, Andersson R, Zhao X, Wang X: Potential role of reactive oxygen species in pancreatitis-associated multiple organ dysfunction. *Pancreatol* 2005;5:492-500.
- 19-Esrefoglu M, Gul M, Ates B, Selimoglu MA. Ultrastructural clues for the protective effect of melatonin against oxidative damage in cerulein-induced pancreatitis. *J Pineal Res* 2006;40:92-97.
- 20-Szabolcs A, Reiter RJ, Letoha T, Hegyi P, Papai G, VArgininea I, Jarmay K, Kaszaki J, Sari R, Rakonczay Z, Lonovics J, Takacs T. Effect of melatonin on the severity of L-Arginine-induced experimental acute pancreatitis in rats. *World J Gastroenterol* 2006;12:251-258.
- 21-Wenger FA, Kilian M, Heukamp I, Foitzik T, Jacobi CA, Guski H, Schimke I, Müller JM. Effects of octreotide in acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:1872-1876.
- 22-Hardman JG, Shields CJ, Schofield D, McMahon R, Redmond HP, Siriwardena AK. Intravenous antioxidant modulation of end-organ damage in L-Arginine-induced experimental acute pancreatitis. *Pancreatol* 2005; 5:380-386.
- 23-Angstwurm MW, Schottdorf J, Schopohl J, Gaertner R. Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Crit Care Med* 1999;27:1807-13.
- 24-Rayman M. The importance of selenium to human health. *Lancet* 2000;356:233-241.
- 25-Kagan VE. Tocopherol stabilizes membrane against phospholipase A2, free fatty acids and lysophospholipids. *Ann NY Acad Sci* 1989;570:121-135

- 26-Antosiewicz J, Popinigis J, Ishiguro H, Hayakawa T, Wakabayashi T. Cerulein induced acute pancreatitis diminished vitamin E concentration in plasma and increased in the pancreas. *Int J pancreatol* 1995;17:231-236.
- 27-Virlos, I. T., J. Mason, D. Schofield, R. F. McCloy, J. M. Eddleston, Siriwardena A. K.: Intravenous n-acetylcysteine, ascorbic acid and selenium-based anti-oxidant therapy in severe acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:1262-1267.
- 28-Comert B, Isik T, Aydin S, Bozoglu E, Unal B, Deveci S, Mas N, Cinar E, Mas MR. Combination of allopurinol and hyperbaric oxygen therapy: A new treatment in experimental acute necrotizing pancreatitis? *World J Gastroenterol* 2007;13:6203-6207.
- 29-Jenkins SA, Ellenbogen S, Day DW, Roberts N, Baxter JN. Effects of SMS 201-995 on reticuloendothelial system (RES) activity in rats with acute pancreatitis. *Gut* 1987;28:1381-1385.
- 30-Baxter JN, Jenkins SA, Day DW, Shields R. The effects of somatostatin analogue (sms 201-995) on hepatic and splenic reticulo-endothelial function in rat. *Br J Surg* 1985;72:1005-1008.
- 31-Paran H, Klausner J, Siegal A, Graff E, Freund U, Kaplan O. Effect of the somatostatin analogue oktreotide on experimental pancreatitis in rats. *J Surgical Res* 1996;2:201-206.
- 32-Gong Z, Yuan Y, Lou K, Tu S, Zhai Z, Xu J. Mechanisms of chinese herb emodin and somatostatin analogs on pancreatic regeneration in acute pancreatitis in rats. *Pancreas* 2002;25:154-160.
- 33-Greenberg R, Haddad R, Kashiatan H, Kaplan O. The effects of somatostatin and octerotide on experimental and human acute pancreatitis. *J Lab Clin Med* 2000;135:112-121.
- 34-Uhl W., M. W. Buchler, P. Malfertheiner, H. G. Beger, G. Adler , W. Gaus: A randomised, double blind, multicentre trial of oktreotide in moderate to severe acute pancreatitis. *Gut* 1999;45:97-104
- 35-Capizzi RL. The preclinical basis for broad-spectrum selective cytoprotection of normal tissues from cytotoxic therapies by amphostine. *Seminars in Oncology* 1999;26:3-21.
- 36-Shaw LM, Bonner HS, Brown DQ. Metabolic pathways of WR-2721 (ethyol, amphostine) in the BALB/c mouse. *Drug Metab Disp* 1994;22:895-902
- 37-Santini V, Giles F. The potential of amphostine: from cytoprotectant to therapeutic agent. *Haematologica* 1999;84:1035-1042.

- 38-Myers CE, McGuire WP, Liss RH, Ifrim I, Grotzinger K, Young RC. Adriamycin: The role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science* 1977;197:165-167
- 39-Elliott PJ, Zollner TM, Boehncke WH. Proteasome inhibition: a new anti-inflammatory strategy. *J Mol Med* 2003; 81: 235-245.
- 40-Letoha T, Feher LZ, Pecze L, Somlai C, VArgininea I, Kaszaki J, Toth G, Vizler C, Tiszlavicz L, Takacs T. Therapeutic proteasome inhibition in experimental acute pancreatitis *World J Gastroenterol* 2007;13:4452-4457.
- 41-Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, Singhal S, Jagannath S, Irwin D, Rajkumar SV, Srkalovic G. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N. Engl J Med* 2003;348:2609–2617.
- 42- J. Adams, V.J. Palombella, E.A. Sausville, J. Johnson, A. Destree, D.D. Lazarus, J. Maas, C.S. Pien, S. Prakash, P.J. Elliott, Proteasome inhibitors: a novel class of potent and effective antitumor agents, *Cancer Res* 1999;59:2615-2622.
- 43-C. Wojcik, M. Di Napoli, Ubiquitin-proteasome system and proteasome inhibition: new strategies in stroke therapy, *Stroke* 2004;35:1506-1518.
- 44- Waterford SD, Kolodecik TR, Thrower EC, Gorelick FS. Vacuolar ATPase regulates zymogen activation in pancreatic acini. *J Biol Chem* 2005; 280: 5430-5434
- 45- Husain SZ, Prasad P, Grant WM. The ryanodine receptor mediates early zymogen activation in pancreatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 14386-14391.
- 46- Thrower EC, Diaz d V, Kolodecik TR, Gorelick FS. Zymogen activation in a reconstituted pancreatic acinar cell system. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: 894-G902.
- 47- Mori K. Tripartite management of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell* 2000; 101:451-454.
- 48- Kubisch CH, Sans MD, Ernst SA. Early activation of endoplasmic reticulum stress is associated with Arginine induced acute pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006,
- 49- Pastor CM, Vonlaufen A, Georgi F. Neutrophil depletion – but not prevention of Kupffer cell activation – decreases the severity of cerulein-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12:1219-1224.

- 50- Gukovskaya AS, Vaquero E, Zaninovic V. Neutrophils and NADPH oxidase mediate intrapancreatic trypsin activation in murine experimental acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2002; 122:974-984.
- 51- Mayerle J, Schnekenburger J, Kruger B. Extracellular cleavage of Ecadherin by leukocyte elastase during acute experimental pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 2005; 129:1251-1267.
- 52- Esrefoglu M, Gul M, Ates B. Antioxidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein-induced pancreatitis and associated liver injury in rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12:259-264.
- 52- Fortunato F, Deng X, Gates LK. Pancreatic response to endotoxin after chronic alcohol exposure: switch from apoptosis to necrosis? *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290:232-241.
- 54- Criddle DN, Murphy J, Fistetto G. Fatty acid ethyl esters cause pancreatic calcium toxicity via inositol trisphosphate receptors and loss of ATP synthesis. *Gastroenterology* 2006; 130:781-793.
- 55- Mota RA, Sanchez-Bueno F, Saenz L. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase attenuates the severity of acute pancreatitis and associated lung injury. *Lab Invest* 2005; 85:1250-1262.
- 56- Hyvonen MT, Herzig KH, Sinervirta R. Activated polyamine catabolism in acute pancreatitis: alpha-methylated polyamine analogues prevent trypsinogen activation and pancreatitis-associated mortality. *Am J Pathol* 2006; 168:115-122.
- 57- Bhattacharya S, Ray RM, Johnson LR. Decreased apoptosis in polyamine depleted IEC-6 cells depends on Akt-mediated NF-kappaB activation but not GSK3beta activity. *Apoptosis* 2005; 10:759-776.
- 58- Bhattacharya S, Ray RM, Johnson LR. Integrin beta3 mediated Src activation regulates apoptosis in IEC-6 cells via Akt and STAT3. *Biochem J* 2006.
- 59- Takeda K, Mikami Y, Fukuyama S. Pancreatic ischemia associated with vasospasm in the early phase of human acute necrotizing pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30:40-49.
- 60- Takeda K, Mikami Y, Fukuyama S. Pancreatic ischemia associated with vasospasm in the early phase of human acute necrotizing pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30:40-49.

- 61- DiMagno MJ, Williams JA, Hao Y. Endothelial nitric oxide synthase is protective in the initiation of caerulein-induced acute pancreatitis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287:80-87.
- 62- Marshall J B. Acute Pancreatitis, a review with an emphasis on new developments. *Arch. intern. Med*, 1993; 153:1185-1198
- 63- Büchler M W, Uhl W, Friess H, Malfertheiner P. Acute Pancreatitis, Novel Concepts in Biology and Therapy. 1st ed, Bern: Blackwell; 1999
- 64- Buchler M, Malfertheiner P, Schadlich H, Nevalainen T J, Friess H, Beger H. Role of phospholipase A₂ in human acute pancreatitis. *Gastroenterology*, 1989; 97:1521-1526
- 65- Stimać D, Fisić E, Milić S, Bilić-Zulle L, Perić R. Prognostic values of IL-6, IL-8, and IL-10 in acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 209-212.
- 66- Mayer JM, Raraty M, Slavin J, Kempainen E, Fitzpatrick J, Hietaranta A et al. Serum amyloid A is a better early predictor of severity than C-reactive protein in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2002; 89: 163-171.
- 67- Pezzilli R, Billi P, Miniero R, Fiocchi M, Cappelletti O, Morselli-Labate AM et al. Serum interleukin-6, interleukin-8, and beta 2-microglobulin in early assessment of severity of acute pancreatitis. Comparison with serum C-reactive protein. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 2341-2348.
- 68- Mayer J, Rau B, Gansauge F, Beger HG. Inflammatory mediators in human acute pancreatitis: clinical and pathophysiological implications. *Gut* 2000; 47: 546-552.
- 69- McKay CJ, Gallagher G, Brooks B, Imrie CW, Baxter JN. Increased monocyte cytokine production in association with systemic complications in acute pancreatitis. *Br J Surg* 1996; 83: 919-923.
- 70- Beutler B, Cerami A. Cachectin: more than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987; 316: 379-385.
- 71- Exley AR, Leese T, Holliday MP, Swann RA, Cohen J. Endotoxaemia and serum tumour necrosis factor as prognostic markers in severe acute pancreatitis. *Gut* 1992; 33: 1126-1128.
- 72- De Beaux AC, Goldie AS, Ross JA, Carter DC, Fearon KC. Serum concentrations of inflammatory mediators related to organ failure in patients with acute pancreatitis. *Br J Surg* 1996; 83: 349-353.
- 73- Gross V, Andreesen R, Leser HG, Ceska M, Liehl E, Lausen M et al. Interleukin-8 and neutrophil activation in acute pancreatitis. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 200-203.

- 74- Mentula P, Kylanpaa ML, Kemppainen E, Jansson SE, Sarna S, Puolakkainen P. Early prediction of organ failure by combined markers in patients with acute pancreatitis. *Br J Surg* 2005; 92: 68-75.
- 75- Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 206-217.
- 76- Pooran N, Indaram A, Singh P, Bank S. Cytokines (IL-6, IL-8, TNF): early and reliable predictors of severe acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 263-266.
- 77- Purkayastha S, Chow A, Athanasiou T, Cambaroudis A, Panesar S, Kinross J et al. Does serum procalcitonin have a role in evaluating the severity of acute pancreatitis? A question revisited. *World J Surg* 2006; 30: 1713-1721.
- 78- Shafiq N, Malhotra S, Bhasin DK, Rana S, Siddhu S, Pandhi P. Estimating the diagnostic accuracy of procalcitonin as a marker of the severity of acute pancreatitis: a meta-analytic approach. *JOP* 2005; 6: 231-237.
- 79- Kylanpaa-Back ML, Takala A, Kemppainen EA, Puolakkainen PA, Leppaniemi AK, Karonen SL. Procalcitonin, soluble interleukin-2 receptor, and soluble E-selectin in predicting the severity of acute pancreatitis. *Crit Care Med* 2001; 29: 63-69.
- 80- Modrau IS, Floyd AK, Thorlacius-Ussing O. The clinical value of procalcitonin in early assessment of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 2005; 100: 1593-1597.
- 81- Borgstrom A, Lasson A, Ohlsson K. Patterns of immunoreactive trypsin in serum from patients with acute abdominal disorders. *Scand J Clin Lab Invest* 1989; 49: 757-762.
- 82- Lempinen M, Kylanpaa-Back ML, Stenman UH, Puolakkainen P, Haapiainen R, Finne P et al. Predicting the severity of acute pancreatitis by rapid measurement of trypsinogen-2 in urine. *Clin Chem* 2001; 47: 2103-2107.
- 83- Kloppel G, Dreyer T, Willemer S, Kern HF, Adler G. Human acute pancreatitis: its pathogenesis in the light of immunocytochemical and ultrastructural findings in acinar cells. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1986;409:791-803.
- 84- Willemer S, Adler G. Histochemical and ultrastructural characteristics of tubular complexes in human acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1989;34:46-55.
- 85- Willemer S, Kloppel G, Kern HF, Adler G. Immunocytochemical and morphometric analysis of acinar zymogen granules in human acute pancreatitis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1989;415:115-123.

- 86- Bartholomew C. Acute scorpion pancreatitis in Trinidad. *Br Med J* 1970;1:666-668.
- 87- Andrzejewska A, Dlugosz JW, Jurkowska G. The effect of antecedent acute ethanol ingestion on the pancreas ultrastructure in taurocholate pancreatitis in rats. *Exp Mol Pathol* 1998;65:64-77.
- 88- Foitzik T, Lewandrowski KB, Fernandez-del Castillo C, Rattner DW, Klar E, Warshaw AL. Exocrine hyperstimulation but not pancreatic duct obstruction increases the susceptibility to alcohol-related pancreatic injury. *Arch Surg* 1994;129:1081-1085.
- 89- Letko G, Nosofsky T, Lessel W, Siech M. Transition of rat pancreatic juice edema into acute pancreatitis by single ethanol administration. *Pathol Res Pract* 1991;187:247-250.
- 90- Luthen RE, Niederau C, Grendell JH. Glutathione and ATP levels, subcellular distribution of enzymes, and permeability of duct system in rabbit pancreas following intravenous administration of alcohol and cerulein. *Dig Dis Sci* 1994; 39:871-879.
- 91- Quon MG, Kugelmas M, Wisner JR Jr, Chandrasoma P, Valenzuela JE. Chronic alcohol consumption intensifies caerulein-induced acute pancreatitis in the rat. *Int J Pancreatol* 1992;12:31-39.
- 92- Schneider A, Whitcomb DC, Singer MV. Animal models in alcoholic pancreatitis - what can we learn? *Pancreatology* 2002;2:189-203.
- 93- Katz M, Carangelo R, Miller LJ, Gorelick F. Effect of ethanol on cholecystokinin-stimulated zymogen conversion in pancreatic acinar cells. *Am J Physiol* 1996;270: 171-175.
- 94- Saluja AK, Lu L, Yamaguchi Y, Hofbauer B, Runzi M, Dawra R. A cholecystokinin-releasing factor mediates ethanol-induced stimulation of rat pancreatic secretion. *J Clin Invest* 1997;99:506-512.
- 95- Abcouwer SF, Norman J, Fink G, Carter G, Lustig RJ, Souba WW. Tissue-specific regulation of glutamine synthetase gene expression in acute pancreatitis is confirmed by using interleukin-1 receptor knockout mice. *Surgery* 1996; 120:255-263
- 96- Bhatia M, Saluja AK, Hofbauer B, Frossard JL, Lee HS, Castagliuolo I. Role of substance P and the neurokinin 1 receptor in acute pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:4760-4765.
- 97- Grady EF, Yoshimi SK, Maa J, Valeroso D, Vartanian RK, Rahim S. Substance P mediates inflammatory oedema in acute pancreatitis via activation of the neurokinin-1 receptor in rats and mice. *Br J Pharmacol* 2000;130:505-512.

- 98- Frossard JL, Saluja A, Bhagat L, Lee HS, Bhatia M, Hofbauer B. The role of intercellular adhesion molecule 1 and neutrophils in acute pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury. *Gastroenterology* 1999;116:694-701.
- 99- Kaufmann P, Tilz GP, Smolle KH, Demel U, Krejs GJ. Increased plasma concentrations of circulating intercellular adhesion molecule-1 (cICAM-1) in patients with necrotizing pancreatitis. *Immunobiology* 1996;195:209-219.
- 100- Fu K, Tomita T, Sarras MP Jr, De Lisle RC, Andrews GK. Metallothionein protects against cerulein-induced acute pancreatitis: analysis using transgenic mice. *Pancreas* 1998; 17:238-246.
- 101- Halangk W, Lerch MM, Brandt-Nedelev B, Roth W, Ruthenbueger M, Reinheckel T. Role of cathepsin B in intracellular trypsinogen activation and the onset of acute pancreatitis. *J Clin Invest* 2000;106:773-781.
- 102- Umans L, Serneels L, Overbergh L, Stas L, Van Leuven F. alpha2-macroglobulin- and murinoglobulin-1-deficient mice. A mouse model for acute pancreatitis. *Am J Pathol* 1999;155: 983-993.
- 103- Bhatia M, Saluja AK, Singh VP, Frossard JL, Lee HS, Bhagat L. Complement factor C5a exerts an anti-inflammatory effect in acute pancreatitis and associated lung injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;280:974-978.
- 104- Mizuma K, Schroder T, Kaarne M, Korpela H, Lempinen M. Serum phospholipase A2 in diet-induced pancreatitis. *Eur Surg Res* 1984;16:156-161.
- 105- Thal A, Brackney E. Acute hemorrhagic pancreatic necrosis produced by local Schwartzman reaction: experimental study on pancreatitis. *JAMA* 1954;155:569-574.
- 106- Thal A. Studies on pancreatitis. II. Acute pancreatic necrosis produced experimentally by the arthus sensitization reaction. *Surgery* 1955;37:911-917.
- 107- Janigan DT, Nevalainen TJ, MacAulay MA, Vethamany VG. Foreign serum-induced pancreatitis in mice. I. A new model of acute pancreatitis. *Lab Invest* 1975;33:591-607.
- 108- Nevalainen TJ, Fowlie FE, Janigan DT. Foreign serum-induced pancreatitis in mice. II. Secretory disturbances of acinar cells. *Lab Invest* 1977;36:469-473.
- 109- Nevalainen TJ. Pancreatic injury caused by intraductal injection of foreign serum in rat. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1978;27:89-98.

- 110-Letko G, Mantke R, Sokolowski A, Spormann H. Enzymatic and histologic investigations into the course of pancreatic alterations induced by anti-acinar-cell-antiserum. *Int Surg* 1990;75:254-258.
- 111- Jancar S, De Giaccobi G, Mariano M, Mencia-Huerta JM, Sirois P, Braquet P. Immune complex induced pancreatitis: effect of BN 52021, a selective antagonist of plateletactivating factor. *Prostaglandins* 1988;35:757-770.
- 112- Kanno H, Nose M, Itoh J, Taniguchi Y, Kyogoku M. Spontaneous development of pancreatitis in the MRL/Mp strain of mice in autoimmune mechanism. *Clin Exp Immunol* 1992;89:68-73.
- 113- Lombardi B, Estes LW, Longnecker DS. Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by DL-ethionine fed with a choline-deficient diet. *Am J Pathol* 1975;79:465-480.
- 114- Lombardi B, Rao NK. Acute hemorrhagic pancreatic necrosis in mice. Influence of the age and sex of the animals and of dietary ethionine, choline, methionine, and adenine sulfate. *Am J Pathol* 1975;81:87-99.
- 115- Gilliland L, Steer ML. Effects of ethionine on digestive enzyme synthesis and dischArgininee by mouse pancreas. *Am J Physiol* 1980;239:418-426.
- 116- Coelle EF, Adham N, Elashoff J, Lewin K, Taylor IL. Effects of prostaglandin and indomethacin on diet-induced acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 1983;85:1307-1312.
- 117- Buchler M, Friess H, Uhl W, Beger HG. Clinical relevance of experimental acute pancreatitis. *Eur Surg Res* 1992;24:85-88.
- 118- Niederau C, Luthen R, Niederau MC, Grendell JH, Ferrell LD. Acute experimental hemorrhagic-necrotizing pancreatitis induced by feeding a choline-deficient, ethionine supplemented diet. Methodology and standards. *Eur Surg Res* 1992;24:40-54.
- 119- Hegyi P, Rakonczay Z Jr, Sari R, Gog C, Lonovics J, Takacs T. L-Argininee-induced experimental pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2004;10:2003-2009.
- 120- VArgininea IS, Matkovics B, Hai DQ, Kotorman M, Takacs T, Sasvari M. Lipid peroxidation and antioxidant system changes in acute L-Argininee pancreatitis in rats. *Acta Physiol Hung* 1997;85:129-138.

- 121- Czako L, Takacs T, VArgininea IS, Tizslavicz L, Hai DQ, Hegyi P. Involvement of oxygen-derived free radicals in L-Arginine-induced acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1998;43: 1770-1777.
- 122- Czako L, Takacs T, VArgininea IS, Tizslavicz L, Hai DQ, Hegyi P. Oxidative stress in distant organs and the effects of allopurinol during experimental acute pancreatitis. *Int J Pancreatol* 2000;27:209-216.
- 123- Czako L, Takacs T, VArgininea IS, Hai DQ, Tizslavicz L, Hegyi P. The pathogenesis of L-Arginine-induced acute necrotizing pancreatitis: inflammatory mediators and endogenous cholecystokinin. *J Physiol Paris* 2000;94:43-50.
- 124- VArgininea IS, Matkovics B, Czako L, Hai DQ, Kotorman M, Takacs T. Oxidative stress changes in L-Arginine-induced pancreatitis in rats. *Pancreas* 1997;14:355-359.
- 125- Takacs T, Czako L, Morschl E, Laszlo F, Tizslavicz L, Rakonczay Z Jr. The role of nitric oxide in edema formation in L-Arginine-induced acute pancreatitis. *Pancreas* 2002;25:277-282.
- 126- Takacs T, Czako L, Jarmay K, Farkas G Jr, Mandi Y, Lonovics J. Cytokine level changes in L-Arginine-induced acute pancreatitis in rat. *Acta Physiol Hung* 1996;84:147-156.
- 127- Rakonczay Z Jr, Jarmay K, Kaszaki J, Mandi Y, Duda E, Hegyi P. NF-kappaB activation is detrimental in Arginine-induced acute pancreatitis. *Free Radic Biol Med* 2003;34:696-709.
- 128- Kishino Y, Kawamura S. Pancreatic damage induced by injecting a L-Arginine dose of Arginine. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1984;47:147-155.
- 129- Tani S, Itoh H, Okabayashi Y, Nakamura T, Fujii M, Fujisawa T. New model of acute necrotizing pancreatitis induced by excessive doses of Arginine in rats. *Dig Dis Sci* 1990;35:367-374.
- 130- Weaver C, Bishop AE, Polak JM. Pancreatic changes elicited by chronic administration of excess L-Arginine. *Exp Mol Pathol* 1994;60:71-87.
- 131- Delaney CP, McGeeney KF, Dervan P, Fitzpatrick JM. Pancreatic atrophy: a new model using serial intra-peritoneal injections of L-Arginine. *Scand J Gastroenterol* 1993;28: 1086-1090.
- 132- Mc Cutcheon AD. Reflux of duodenal contents in the pathogenesis of pancreatitis. *Gut* 1964;5:260-265.

- 133- Kim Hue Su, Christine Cuthbertson, And Prof Christopher Christophi. Review of experimental animal models of acute pancreatitis. *HPB(Oxford)* 2006;8(4):264- 286.
- 134- Chan and Leung. *Animal Models and Basic Research in AP*. Lippincott Williams and Wilkins *Pancreas* 2007;34:5-8
- 135- Hoffmann TF, Leiderer R, Waldner H, Arbogast S, Messmer K. Ischemia reperfusion of the pancreas: a new in vivo model for acute pancreatitis in rats. *Res Exp Med (Berl)* 1995;195: 125-144
- 136- Haas GS, Warshaw AL, Daget WM, Aretz HT. Acute pancreatitis after cardiopulmonary bypass. *Am J Surg* 1985;149:508-515.
- 137- Cavallini, G., A. Tittobello, L. Frulloni, E. Masci, A. Mariana & V. Di Francesco: Gabexate for the prevention of pancreatic damage related to endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Gabexate in digestive endoscopy–Italian Group. *N. Engl. J. Med.* 1996; 335: 919-923.
- 138- Büchler M, Malfertheiner P, Uhl W, Schölmerich J, Stöckmann F, Adler G, Gaus W, Rolle K, Beger HG: Gabexate mesilate in human acute pancreatitis. German Pancreatitis Study Group. *Gastroenterology* 1993;104: 1165-1170.
- 139- Berling R, Genell S, Ohlsson K. High-dose intraperitoneal aprotinin treatment of acute severe pancreatitis: a double-blind randomized multi-center trial. *J. Gastroenterol.* 1994;29: 479-485.
- 140- Mayumi T, Ura H, Arata S, Kitamura N, Kiriyama I, Shibuya K, Sekimoto M, Nago N, Hirota M, Yoshida M, Ito Y, Hirata K, Takada. Evidence-based clinical practice guidelines for acute pancreatitis: proposals. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 2002; 9: 413-422.
- 141- Kaufmann P, Tilz GP, Smolle KH, Demel U, Krejs GJ. Increased plasma concentrations of circulating intercellular adhesion molecule-1 (cICAM-1) in patients with necrotizing pancreatitis. *Immunobiology* 1996; 195: 209-219.
- 142- Frossard, J. L., A. Saluja, L. Bhagat, H. S. Lee, M. Bhatia, B. Hofbauer, M. L. Steer M. L.: The role of intercellular adhesion molecule 1 and neutrophils in acute pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury. *Gastroenterology* 1999; 116: 694-701.
- 143- Johnson CD, Kingsnorth AN, Imrie CW, McMahon MJ, Neoptolemos JP, McKay C, Toh SK, Skaife P, Leeder PC, Wilson P, Larvin M, Curtis LD: Double blind, randomised, placebo controlled study of a platelet activating factor antagonist, lexipafant, in the treatment and prevention of organ failure in predicted severe acute pancreatitis. *Gut* 2001; 48: 62-69.

- 144- Slogoff MI., RT. Ethridge, S. Rajaraman, BM. Evers: COX- 2 inhibition results in alterations in nuclear factor (NF)-kappaB activation but not cytokine production in acute pancreatitis. *J. Gastrointest Surg.* 2004; 8: 511-519.
- 145- Saluja AK, Bhagat L, Singh VP, Song AM,. Steer ML: Pancreatitis and associated lung injury: when MIF miffs. *Gastroenterology* 2003; 124: 844-847.
- 146- Sakai, Y., A. Masamune, A. Satoh, J. Nishihira, T. Yamagiwa,T. Shimosegawa. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of severe acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2003; 124: 725-736.
- 147- Virlos IT, Mason J, Schofield D, McCloy RF, Eddleston JM, Siriwardena AK: Intravenous n-acetylcysteine, ascorbic acid and selenium-based anti-oxidant therapy in severe acute pancreatitis. *Scand. J. Gastroenterol.* 2003: 38: 1262-1267.
- 148- Willemer S, Feddersen CO, KArgininees W, Adler G. Functional and morphological pulmonary changes in cerulein-induced pancreatitis in the rat. *Dig Dis Sci* 1987;32:1190
- 149- Santini V, Giles F. The potential of amiphostine: from cytoprotectant to therapeutic agent. *Haematologica* 1999;84:1035-1042
- 150- Capizzi RL. The preclinical basis for broad-spectrum selective cytoprotection of normal tissues from cytotoxic therapies by amiphostine. *Seminars in Oncology* 1999;26:3-21.
- 151- Davidson DE, Grenan MM, Sweeney TR. Biological characteristics of some improved radioprotectors, In *Anonymous Radiation Sensitizers*. New York, NY, Masson 1980;309-320.
- 152- Yuhas JM, Storer JB. Differential chemoprotection of normal and malignant tissues. *J Natl Cancer Inst* 1969;42:331-335.
- 153- Calabro-Jones PM, Aguilera JA, Ward JF. Uptake of WR-2721 derivatives by cells in culture:Identification of the transported form of drug. *Cancer Res* 1988;48:3634-3640.
- 154- Smoluk GD, Fahey RC, Calabro-Jones PM. Radioprotection of cells in culture by WR-2721 and derivates: Form of the drug responsible for protection.*Cancer Res* 1988;48:3641-3647.
- 155- Utley JF, Seaver N, Newton GL. Pharmacokinetics of WR-1065 in Mouse tissue following treatment with WR-2721. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1984;10:1525-1528.
- 185- Mangold DJ, Huelle BK, Miller MA. Pharmacokinetics and disposition of WR1065 in the rhesus monkey. *Drug Metab Disp* 1990;18:281-287.
- 156- Shaw LM, Bonner HS, Brown DQ. Metabolic pathways of WR-2721 (ethyol, amiphostine) in the BALB/c mouse. *Drug Metab Disp* 1994;22:895-902.

- 157- Utley JF, Marlowe C, Waddell WJ. Distribution of S-labeled WR -2721 in normal and malignant tissues of the mouse. *Radiat Res* 1976;68:284-291.
- 158- Treskes M, van der Vijgh WJ. WR 2721 as a modulator of cisplatin- and carboplatin-induced side effects in comparison with other chemoprotective agents: A molecular approach. *Cancer Chemother Pharmacol* 1993;33:93-106.
- 159- Treskes M, Nijtmans LG, Fichtinger-Schepman AM. Effects of the modulating agent WR2721 and its main metabolites on the formation and stability of cisplatin-DNA adducts in vitro in comparison to the effects of thiosulphate and diethyldithiocarbamate. *Biochem Pharmacol* 1992;43:1013-1019.
- 160- Ramakrishnan N, Catravas GN. WR-1065 protects thymocytes from programmed cell death. *J Immunol* 1992; 148:1817-1821.
- 161- Ohnishi ST, Ohnishi T, Glick JH, Schein PS. In vitro study on the antioxidant activities of amphostine (WR-2721). *Proc Am Assoc Cancer Res* 1992;33:419
- 162- Bolaman Z, Akalin N, Koseoglu MH. Effect of amphostine pre-treatment against adriamycin-induced lipid peroxidation in rat heart. *Haema* 2003;6:61-64.
- 163- Bhanumathi P, Saleesh ED, Vasudevan DM. WR-1065 as a chemoprotector in adriamycin chemotherapy. *Cancer Letters* 1994;81:171-175.
- 164- Rigatos S, Stathopoulos G, Dontas I. Investigation of doxorubicin tissue toxicity: Does amphostine provide chemoprotection? An experimental Study. *Anticancer Research* 2002;22:129-134.
- 165- Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N, Butcher N, Rivier J. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 1973; 179:77-79.
- 166- Bauer W, Briner U, Doepfner W, Haller R, Hunguenin R, Marsach P. SMS 201-995: a very potent and selective octapeptide analogue of somatostatin with prolonged action. *Life Sci* 1982;31:1133-1140.
- 167- Del Pozo E, Neufeld M, Schluter K, Tortosa E, Clarenbach P, Bieder E. Endocrine profile of a long acting somatostatin derivative, SMS 201-995. Study in normal volunteers following subcutaneous administration. *Acta Endocrinol* 1986;111:433-439.
- 168- Jenkins SA, Ellenbogen S, Day DW, Roberts N, Baxter JN. Effects of SMS 201-995 on reticuloendothelial system (RES) activity in rats with acute pancreatitis. *Gut* 1987;28: 1381-1385.

- 169-.Baxter JN, Jenkins SA, Day DW, Shields R. The effects of somatostatin analogue (sms 201-995) on hepatic and splenic reticulo-endothelial function in rat. *Br J Surg* 1985;72: 1005-1008.
- 170- Van Hagen PM, Krenning EP, Kwekkeboom DJ, Reubi JC, Anker-Lugtenburg PJ, Lowenberg B. Somatostatin and the immune and haematopoietic system: a review. *Eur J Clin Invest* 1994;24:91-99.
- 171- Szabo S, Usadel KH. Cytoprotection-organoprotection by somatostatin: gastric and hepatic lesions. *Experientia* 1982;38:254-256.
- 172- Usadel KH, Kessler H, Rohr G, Kusterer K, Palitzsch KD, Schwedes U. Cytoprotective properties of somatostatin. *Klin Wochenschr* 1986;64:59-63.
- 173- Baxter JN, Jenkins SA, Day DW, Roberts NB, Cowell DC, Mackie CR. Effect of somatostatin analogue on the prevention and treatment of experimentally induced acute pancreatitis in the rat. *Br J Surg* 1985;72:382-385.
- 174- Zhu ZH, Holt S, El-Lbishi MS, Grady T, Taylor TV, Powers REA. Somatostatin analogue is protective against retrograde bile salt-induced pancreatitis in the rat. *Pancreas* 1991;6: 609-613.
- 175- Delany HM, Ali KB, Trocino AA, The EL, Steinberg JJ, Levenson SM. Traumatic pancreatitis: method and effects of I. v. fluids and Sandostatin. *J Surg Res* 1996;60:41-48.
- 176- Adams J, Palombella VJ, Sausville EA. Proteasome inhibitors: a novel class of potent and effective antitumor agents. *Cancer Res* 1999;59: 2615-2622.
- 177- Glickman MH, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol Rev* 2002;82:373- 428.
- 178- Adams J. The proteasome structure, function, and role in the cell. *Cancer Treat Rev.*2003;29:3-9.
- 179- Milano A, Iaffaioli RV, Caponigro F. The proteasome:A worthwhile tArginineet for the treatment of solid tumours? *Eur J Cancer* 2007;43:1125-1153.
- 180- Ludwig H, Khayat D, Giaccone G. Proteasome Inhibition and Its Clinical Prospects in the Treatment of Hematologic and Solid Malignancies. *Cancer* 2005;104:1794-1807.
- 181- Boccadoro M, Morgan G, Cavenagh J. Preclinical evaluation of the proteasome inhibitor bortezomib in cancer therapy. *Cancer Cell International* 2005;5:1-9.
- 182- Nencioni A, Grünebach F, Patrone F, Ballestrerol A, Brossart P. Proteasome inhibitors: antitumor effects and beyond. *Leukemia* 2007;21:30-6

- 183- Elliott PJ, Zollner TM, Boehncke WH. Proteasome inhibition: a new anti-inflammatory strategy. *J Mol Med* 2003; 81: 235-245
- 184- Lawrence T, Gilroy DW, Colville-Nash PR, Willoughby DA. Possible new role for NF-kappaB in the resolution of inflammation. *Nat Med* 2001; 7: 1291-1297
- 185- Kane RC, Farrell AT, Sridhara R, Pazdur R. United States Food and Drug Administration approval summary: bortezomib for the treatment of progressive multiple myeloma after one prior therapy. *Clin Cancer Res* 2006;12:2955-60
- 186- Weber CK, Adler G. From acinar cell damage to systemic inflammatory response: current concepts in pancreatitis. *Pancreatology* 2001; 1: 356-362
- 187- Algul H, Tando Y, Schneider G, Weidenbach H, Adler G, Schmid RM. Acute experimental pancreatitis and NF-kappaB/Rel activation. *Pancreatology* 2002; 2: 503-509
- 188- Bhatia M, Wong FL, Cao Y, Lau HY, Huang J, Puneet P, Chevali L. Pathophysiology of acute pancreatitis. *Pancreatology* 2005; 5: 132-144
- 189- Halangk W, Lerch MM. Early events in acute pancreatitis. *Clin Lab Med* 2005; 25: 1-15
- 190- Virlos I, Mazzon E, Serraino I, Genovese T, Di Paola R, Thiemerman C, Siriwardena A, Cuzzocrea S. Calpain I inhibitor ameliorates the indices of disease severity in a murine model of cerulein-induced acute pancreatitis. *Intensive Care Med* 2004; 30: 1645-1651
- 191- Letoha T, Somlai C, Takacs T, Szabolcs A, Rakonczay Z Jr, Jarmay K, Szalontai T, VArgininea I, Kaszaki J, Boros I, Duda E, Hackler L, Kurucz I, Penke B. The proteasome inhibitor MG132 protects against acute pancreatitis. *Free Radic Biol Med* 2005; 39: 1142-1151
- 192- Champe PC, Harvey RA.: *Biyokimya*1997 ; 340:2
- 193- El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH.: Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and beta-carotene. *Food Chem Toxicol.* 2004; 42:1563-1571;.
- 194- Frank J.: Beyond vitamin E supplementation: an alternative strategy to improve vitamin E status. *J Plant Physiol.* 2005;162:834-843,
- 195- Sokol RJ.: The coming of age of vitamin E. *Hepatology.* 1989;9:649-653
- 196- Kayaalp O.: *Tıbbi farmakoloji*: 2002; 91: 1484-1489.
- 197- Di Mascio P, Murphy ME, Sies H.: Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53:194-200.

- 198- Uden S, Schofield D, Miller PF, Day JP, Bottiglier T, Braganza JM. *Aliment Pharmacol Ther.* Antioxidant therapy for recurrent pancreatitis: biochemical profiles in a placebo-controlled trial. 1992;6:229-240.
- 199-Antosiewicz J, Popinigis J, Ishiguro H, Hayakawa T, Wakabayashi T. *Int J Pancreatol.* Cerulein-induced acute pancreatitis diminished vitamin E concentration in plasma and increased in the pancreas. 1995;17:231-236.
- 200- Halliwell BJ, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.* Oxford: Clarendon Press. 1989; 280-370.
- 201- Huges DA. Dietary antioxidants and human immune function. *British Nutr. Founda.* 2000; 25: 35-41
- 202- Dwenger A, Funck M, Lueken B, Schweitzer G, Lehmann U. Effect of ascorbic acid on neutrophil functions and hypoxanthine/xanthine oxidase generated , oxygen derived radicals. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 187-191
- 203- Ma TY, Hollander D, Freeman D. Oxygen free radical injury of IEC-18 small intestine cell monolayers. *Gastroenterology* 1991;100:1533-1543.
- 204-Keshavarzian A, Sedghi S, Kanofsky J. Excessive production of oxygen metabolites by inflamed colon: Analysis by chemiluminescence probe. *Gastroenterology* 1992;103:177-185
- 205- Ma TY, Hollander D, Freeman D. Oxygen free radical injury of IEC-18 small intestine cell monolayers. *Gastroenterology* 1991;100:1533-1543.
- 206- Simmonds NJ, Rampton DS. Inflammatory bowel disease- A radical view. *Gut* 1993;34:855-868.
- 207- Kadıköylü G, Yazanel O, Ayyıldız O. Serbest oksijen radikalleri ve inflamatuvar barsak hastalığı. *Klinik seriler* 1994;4:47-50.
- 208- Allen RG, Venkatraj VS. Oxidant and antioxidants in development and differentiation. *J Nutr* 1992; 122:631-5 172) Tamer L, Polat G, Eskandari G. Serbest radikaller. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2000;1:52-58.
- 209- Peiro C, Lafuente N, Matesanz N, Cercas E, Llergo JL, Vallejo S, Rodríguez-Mañas L, Sánchez-Ferrer CF. High glucose induces cell death of cultured human aortic smooth muscle cells through the formation of hydrogen peroxide. *Br J Pharmacol.* 2001;133:967-974
- 210- Nebot C, Moutet M, Huet P. Spectrophotometric assay of superoxide dismutase activity based on the activated autoxidation of a tetracyclic catechol. *Analytic Biochemistry* 1993;214:442-451.

- 211- F. Ursini, M. Maiorino, R. Brigellius-Flohe. Flohe Meth In Enzymol. 1995;252:38-53.
- 212- Fossati P, Perencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. Clin Chem 1980;26:227-231.
- 213- Erdelmeier Í, Gerard-Monnier D, Yadan JC. Reactions of N-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Mechanistic aspects of the colorimetric assay of lipid peroxidation. Chem Res Toxicol 1998;11:1184-1194.
- 214- Gerard – Monnier D, Erdelmeier Í, Regnard K. Reactions of 1-Methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. Chem Res Toxicol 1998;11:1176-1183.
- 215- Meister, A. And M.E. Anderson, Glutathione, Annual Review of Biochemistry, 1983;52:711-760.
- 216- Van Laethem JL, Eskinazi R, Louis H, Rickaert F, Robberecht P, and Deviere J. Multisystemic production of interleukin 10 limits the severity of acute pancreatitis in mice. Gut. 1998; 43: 408–413.
- 217- Halliwell B. Drug antioxidant effects. Drugs 1991; 42: 569 - 605.
- 218- Kour H, Perkins MJ. The free radical chemistry of food additives, In Ed: Arvoma O.I, Halliwell B. Free radicals and food additives, 1991
- 219- Allen RG, Venkatraj VS. Oxidant and antioxidants in development and differentiation. J Nutr 1992; 122:631-635
- 220- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact 2006;160:1-40.
- 221- Brady M, Christmas S, Sutton R, Neoptolemos J, Slavin J: Cytokines and acute pancreatitis. Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol 1999; 13: 265-289.
- 222- Schmid RM, Adler G: Cytokines in acute pancreatitis. New pathophysiological concepts evolve. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999; 11: 125-127.
- 223- Steinle A, Weidenbach H, Wagner M, Adler G, Schmid R: NF-kB/Rel activation in cerulein pancreatitis. Gastroenterology 1999; 116: 420– 430.
- 224- Tietz AB, Wagner ACC, Gaestel M, Göke B, Schäfer C: Gene deletion of MAPKAPK-2 inhibits TNF- α and protects against cerulein-induced pancreatitis. Gastroenterology 2004; 126.

- 225- Kleinhans H, Mann O, Schurr PG, Kaifi JT, Hansen B, Izbicki JR, Strate T. Oxygen radical formation does not have an impact in the treatment of severe acute experimental pancreatitis using free cellular hemoglobin. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2914-2918
- 226- Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Centornio T, Ciccola A, McDonald MC, de Sarro A, Caputi AP, Thiernemann C: Absence of endogenous interleukin-6 enhances the inflammatory response during acute pancreatitis induced by cerulein in mice. *Cytokine* 18:274-285, 2002.
- 227- Paszt A., Eder K., Szabolcs A., Tiszlavitz L., Lázár G., Duda E., Takács T., Lázár G: The effect of glucocorticoid agonist and antagonist on the pathogenesis of L-arginine-induced acute pancreatitis. *Pancreas* 36: 369-376, 2008
- 228- Rigatos S, Stathopoulos G, Dontas I. Investigation of doxorubicin tissue toxicity: Does amiphostine provide chemoprotection? An experimental Study. *Anticancer Research* 2002;22:129-134.
- 229- Kadikoylu G, Bolaman Z, Demir S, Baklaya M, Akalin N, Enli Y. The effects of desferrioxamine on cisplatin-induced lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rat kidneys. *Huan Experimental Toxicol* 2004).
- Huan Experimental Toxicol 2004).
- 230- R.Greenberg, R.Haddad, H.Kashtan, O.Kaplan, The effects of somatostatin and octreotide on experimental and human acute pancreatitis. *J Clin Lab Med* 2000;135:112-21
- 231- Murayama M, Drew B, Joehl J. Does somatostatin analogue prevent experimental acute pancreatitis? *Arch Surg* 1990;125:1570-2
- 232- Sanchez-manuel J, Landa-Garcia JJ, Seco-Gil JL, Velasco-Oses A, Coma-del-Corral MJ, Vaguero-Puerta C. Octreotide effects in experimental severe acute pancreatitis. Analysis of survival, biochemical findings and histomorphometry. *Rev Esp Enferm Dig* 1997;89:101-15.
- 233- Arias-Diaz J, Vara E, Torres-Melero J, Garcia C, Hernandez J, Balibrea JL. Local production of oxygen free radicals and nitric oxide in rat diaphragm during sepsis: effect of pentoxifyline and somatostatin. *Eur. J. Surg.* 1997; 163:619-25.
- 234- Niedermühlbichler M, Wiedermann C. Suppression of superoxide release from human monocytes by somatostatin-related peptides. *Regul. Pept.* 1992; 41:39-47.
- 235- Wenger FA, Kilian M, Jacobi CA, Gregor JJ, Guski H, Schimke I, Müller JM. Effects of octreotide on lipid peroxidation in pancreas and plasma in acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis in rats. *Pancreatology* 2002;2:211-6.

- 236- Zhang XP, Zhang L, Yang P, Zhang RP, Cheng QH. Protective effects of baicalin and octreotide on multiple organ injury in severe acute pancreatitis. 2008 Feb;53(2):581-91. Epub 2007 Jun 5.
- 237- László Czakó, Péter Hegyi, Tamás Takács, Csaba Góg, András Farkas, Yvette Mándy, Ilona Sz. Varga, László Tiszlavicz, János Lonovics. Effects of octreotide on acute necrotizing pancreatitis in rabbits. *World J Gastroenterol* 2004 July 15;10(14):2082-2086
- 238- Eşrefoğlu M, Gül M, Ateş B, Batçioğlu K, Selimoğlu MA. Antioxidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein-induced pancreatitis and associated liver injury in rats. *World J Gastroenterol* 2006 January 14; 12(2):259-264
- 239- Murayama KM, Drew JB, Joehl RJ. Does somatostatin analogue prevent experimental acute pancreatitis? *Arch Surg.* 1990 Dec;125(12):1570-2.
- 240- Paran H, Klausner J, Siegal A, Graf E, Freund U, Kaplan O. Effect of the somatostatin analogue octreotide on experimental pancreatitis in rats. *J Surg Res.* 1996;62:201-6
- 241- Kaplan O, Kaplan D, Casif E, Siegal A, Paran H, Graf E. Effects of delayed administration of octreotide in acute experimental pancreatitis. *J Surg Res.* 1996; 62:109-17