

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**AKUT BİLİYER PANKREATİTLERDE
MORTALİTE VE MORBİDİTE BELİRLENMESİNDE
İMMÜNOLOJİK PARAMETRELERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UFUK OĞUZ İDİZ

DANIŞMAN

PROF. DR. ALİ OSMAN GÜROL

İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI

İMMÜNOLOJİ

İSTANBUL-2021

TEZ ONAYI



BEYAN

İTHAF

Sevgili anneme, babama, eşime ve çocuklarıma.....



TEŞEKKÜRLER

Başta immünoloji denizinde bana yol gösteren, komplike olayları ve akan hücre ölçerin çalışma mekanizmasını anlamama ve uygulamama yardımcı olan Prof. Dr. Gülderen Yanıkkaya Demirel, Prof. Dr. Günnür Deniz'e;

Tezimde ve her türlü sorunumda bana her zaman yardımcı olan saygıdeğer tez danışmanım Prof. Dr. Ali Osman Gürol'a;

Akademik kariyerimde mentor olarak kabul ettiğim ve immünoloji doktorasına başlamama vesile olan Prof. Dr. Erhan Ayşan'a;

Gerek derslerdeki güzel anlatımları, gerekse tezime gösterdikleri yardımlarla İmmunolojiyi sevmeme ve öğrenmeme yardımcı olan Prof. Dr. Esin Aktaş Çetin, Prof. Gaye Erten Yurdağül, Doç. Dr. Sema Bilgiç Gazioğlu, Doç. Dr. Suzan Çınar, Doç. Dr. Umut Can Küçüksezer, Dr. Örg. Üyesi Metin Yusuf Gelmez ve tüm DETAE'deki hocalarıma;

Birlikte derse girdiğimiz ve bizden önceki dönemlerde immünoloji doktorası yaparak konuları anlamamda bana yardımcı olan tüm öğrenci arkadaşlarıma;

Benim bu zamana gelmemde kuşkusuz en büyük rol sahibi anne ve babama;

Hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, zorluklara karşı göğüs germemde dayanağım olan çok sevgili eşime;

Günüm ne kadar zor geçse de herşeye dayanma sebebim olan çocuklarım Ela ve Kerem'e;

Sonsuz teşekkür ediyorum...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2019-33949

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xi
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pankreasın Tarihsel Gelişimi	3
2.2. Pankreas Embriyolojisi	4
2.3. Pankreas Histolojisi	4
2.4. Pankreas Anatomisi	5
2.5. Pankreas Fizyolojisi	7
2.6. Akut Pankreatit	8
2.6.1. Akut Pankreatit Etyolojisi	9
2.6.2. Akut Pankreatit Patogenezi	9
2.6.3. Semptomlar ve Bulgular	11
2.6.4. Tanıda Kullanılan Görüntüleme Metodları	12
2.6.5 Akut Pankreatit Tedavisi	12
2.6.6. Akut Pankreatitte Prognostik Kriterler	13
2.7. İnflamasyon	16
2.7.1 İnflamasyon Yolağı	17

2.7.2 İnflamatuar Yanıt Hücreleri.....	18
2.7.3 Hücre Yüzey Reseptörleri ve Adezyon Molekülleri.....	20
2.7.4 İnflamatuar Yanıtın Çözünür Aracıları.....	21
2.7.4.1 Sitokinler.....	21
2.7.4.2 Kemokinler.....	23
2.7.4.3 Akut Faz Proteinleri.....	24
2.7.5 Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu.....	27
2.7.6 Çoklu Organ Disfonksiyon Sendromu.....	28
2.8. Akan Hücre Ölçer.....	29
2.8.1. Akan Hücre Ölçerin Genel Yapısı.....	31
2.8.2. Akan Hücre Ölçer Uygulama Alanları.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Hastalar.....	35
3.2. Etik Kurulu Onamı.....	37
3.3. Örneklem Büyüklüğü.....	37
3.4. Malzeme ve Kullanılan Alet listesi.....	37
3.5. İmmunfenotipleme İçin Akan Hücre Ölçer Örnek Hazırlama İşlem Basamakları.....	39
3.6. Akan Hücre Ölçerde İmmünfenotipleme İçin Örneklerin Okutulması.....	40
3.7. Serum Sitokin ölçümü için Akan Hücre Ölçer Örnek Hazırlama İşlem Basamakları.....	42
3.8. Akan Hücre Ölçerde Sitokin Tayini İçin Örneklerin Okutulması.....	45
3.9. İstatiksel Analiz.....	45
4. BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA.....	70
KAYNAKLAR.....	82
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU.....	96
ETİK KURUL ONAYI.....	99
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	102
ÖZGEÇMİŞ.....	103

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Biliyer pankreatitte Ranson kriterleri.....	14
Tablo 2-2: İmrie skorlaması.....	14
Tablo 2.3: Akut pankreatitte Modifiye Atlanta Klasifikasyonu.....	15
Tablo 2-4: İnflamasyonda rol alan önemli sitokinler.....	26
Tablo 2-5: İnflamasyonda rol alan önemli kemokinler.....	27
Tablo 3-1: Çalışmada kullanılan alet ve malzemelerin listesi.....	38
Tablo 3-2: Hasta ve kontrol kanlarının immünofenotiplendirmesi için kullanılan yüzey işareti ve florokromlar	40
Tablo 3-3: Sitokin tayin kiti içerisinde yer alan sitokin boncuk numaralandırması.....	43
Tablo 3-4: Standartların hazırlanması ve dilüsyon oranları.....	44
Tablo 4-1: Çalışmaya Katılan gönüllülerin gruplara göre demografik veri, kan tetkikleri ve Apache 2 skorlarının dağılımları.....	47
Tablo 4-2: Akut pankreatit evrelerine göre mortalite ve morbidite oranları ile gelişen organ yetmezliklerinin dağılımı.....	48
Tablo 4-3: Akan hücre ölçer immünofenotipleme sonuçlarının gruplara göre dağılımı.....	50
Tablo 4-4: Akan hücre ölçer serum sitokin sonuçlarının gruplara göre dağılımı	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1: Akan hücre ölçerde lenfosit ve monositlerin kapılama stratejileri.....	42
Şekil 4-1: Pankreatik pseudokist gelişen bir hastanın BT görüntüsü (A), kistogastrostomi sonrasında pseudokistin durumu (B); Pankreatik nekrozun erken döneminde olan bir hasta (C), aynı hastanın nekroz sonrasındaki gelişimi sonrasındaki BT görüntüsü (D), Walled of nekroz gelişen bir hastanın BT görüntüsü (E); Pankreatik pseudokist olan farklı bir hastanın BT görüntüsü (F).....	49
Şekil 4-2: Grupların akan hücre ölçerde tek hücre (A) ve CD45 antikoruna göre hücrelerin dağılımının pseudocolor plot görüntüsü.....	55
Şekil 4-3: Grupların akan hücre ölçerde lenfosit kapısında CD3 antikoruna göre ve CD3 ⁺ kapısında CD4 ve CD8 antikorlarına göre hücrelerin dağılımının pseudocolor plot görüntüsü. B görüntüsünde CD4 ⁺ CD8 ⁻ ve CD4 ⁻ CD8 ⁺ hücreler için büyük ile belirtilen yüzde oranları total lenfosit içerisindeki oranlardır.....	56
Şekil 4-4: Grupların akan hücre ölçerde CD4 ⁺ CD8 ⁻ kapısında PD-1 antikorunlarına göre dağılımının pseudocolor plot (A), smooth pseudocolor plot (B) ve density-plot (C) görüntüsü.....	57
Şekil 4-5: Grupların akan hücre ölçerde CD4 ⁻ CD8 ⁺ kapısında PD-1 antikorunlarına göre dağılımının pseudocolor plot (A), smooth pseudocolor plot (B) ve density-plot (C) görüntüsü.....	58
Şekil 4-6: Grupların akan hücre ölçerde CD3 ⁻ kapısında CD16 ve CD56 antikorlarına göre (A), monosit kapısında CD14 ve CD16 antikorlarına göre (B) hücrelerin dağılımının pseudocolor plot görüntüsü. A görüntüsündeki CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK hücrelerinin yüzdeleri total lenfosit (büyük sayılar) ve CD3 ⁻ lenfositler (küçük sayılar) içerisindeki oranları verilmektedir.....	59
Şekil 4-7: Grupların akan hücre ölçerde CD14 antikoruna göre (A), CD14 kapısında HLA-DR antikorlarına göre (B) hücrelerin dağılımının pseudocolor plot ve CD14 kapısında HLA-DR antikorlarına göre (C) hücrelerin dağılımının smooth pseudocolor plot görüntüsü.....	60

Sekil 4-8: Grupların akan hücre ölçerde CD14 kapısında PDL-1 antikorunlarına göre dağılımının pseudocolor plot (A), smooth pseudocolor plot (B) ve density-plot (C) görüntüsü.....	61
Sekil 4-9: Grupların akan hücre ölçerde % lenfosit (A), lenfosit kapısında %CD3 ⁺ (B), lenfosit kapısında %CD4 ⁺ CD8 ⁻ (C), lenfosit kapısında %CD4 ⁻ CD8 ⁺ (D), lenfosit kapısında %CD16 ⁺ CD56 ⁺ (E), CD4 ⁺ kapısında %PD-1 ⁺ (F), CD4 ⁺ kapısında %PD-1 ⁺ (G), CD8 pozitif kapısında %PD-1 ⁺ dağılımlarının grafiksel görünümü	62
Sekil 4-10: Grupların akan hücre ölçerde % monosit (A), monosit kapısında %CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ klasik olmayan monosit (B), monosit kapısında %CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ intermediate monosit (C), monosit kapısında %CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ klasik monosit (D), CD14 kapısında %HLA-DR ⁺ (E), CD14 kapısında %PD-L1 ⁺ (F) dağılımlarının grafiksel görünümü.....	63
Sekil 4-11: Grup 1'in akan hücre ölçerde sitokin analizinin dot-plot (A,B,C) ve histogram görüntüsünün (D,E) örneği.....	64
Sekil 4-12: Grup 2'in akan hücre ölçerde sitokin analizinin dot-plot (A,B,C) ve histogram görüntüsünün (D,E) örneği.....	65
Sekil 4-13: Grup 3'in akan hücre ölçerde sitokin analizinin dot-plot (A,B,C) ve histogram görüntüsünün (D,E) örneği.....	66
Sekil 4-14: Grup 4'ün akan hücre ölçerde sitokin analizinin dot-plot (A,B,C) ve histogram görüntüsünün (D,E) örneği.....	67
Sekil 4-15: Gruplara göre IFN Alfa 2 (A), IFN Gamma (B), IL1 beta (C), IL6 (D), IL8 (E), IL10 (F), IL12p70 (G), IL17A (H) sitokin değerlerinin (pg/ml) dağılımı.....	68
Sekil 4-16: Gruplara göre IL18 (A), IL23 (B), IL33 (C), MCP1 (D), TNF alfa (E) sitokin değerlerinin (pg/ml) dağılımı.....	69

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AP: Akut Pankreatit

CD: Yüzey Farklılaşma Antijenleri

Treg: Regulator T hücre

IL: İnterlökin

PD-1: Programlı Hücre Ölüm Proteini 1

PD-L1: Programlı Hücre Ölüm Protein Ligandı 1

TNF- α : Tümör Nekroz Faktör Alfa

PMNL: Polimorfonükleer Lökosit

NO: Nitrik Oksit

ERCP: Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatikografi

BT: Bilgisayarlı Tomografi

MR: Magnetik Rezonans Görüntüleme

MRCP: Magnetik Rezonans Kolanjiopankreatikografi

LDH: Laktat Dehidrojenaz

AST: Aspartat Aminotransferaz

BUN: Kan Üre Azotu

PaO₂: Parsiyel Oksijen Basıncı

APACHE: Akut Fizyolojik ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi

CRP: C Reaktif Protein

PAMP: Patojene Bağlı Moleküler Desenler

DAMP: Hasarla İlişkili Moleküler Desenler

ROR: Reaktif Oksijen Radikalleri

PAF: Trombosit Aktive Edici Faktör

MBP: Majör Bazik Protein

EKP: Eozonofil Katyonik Protein

DIC: Yaygın İntravasküler Pıhtılaşma

APC: Antijen Sunan Hücreler

NK: Doğal Öldürücü Hücre

INOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

MHC: Majör Histokompatibilite Kompleks

STAT: Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü

NF κ B: Nükleer Faktör Kappa B

MCP: Monosit Kemoatraktan Protein

MIP: Makrofaj İnflamatuar Protein

AFP: Akut Faz Protein

SIRS: Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu

MODS: Çoklu Organ Disfonksiyon Sendromu

ARDS: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu

FSC: İleri Saçılım

SSC: Yana Saçılım

PCA: Temel Bileşen Analizi

SPADE: Yoğunluğa Göre Normalleştirilmiş Olayların Yayılma Ağacı İlerleme Analizi

GFP: Yeşil Floresan Protein

PI: Propidium İodide

7AAD: 7-Aminoactinomycin D

DAPI: 4',6-diamidino-2-phenylindole

Th: Yardımcı T hücre

KP: Kronik Pankreatit

MOF: Çoklu Organ Yetmezliği

SARS: Şiddetli Akut Solunum Sendromu

HLA: İnsan Lökosit Antijeni

CARS: Antiinflatuar Yanıt Sendromu

ICE: IL-1 Dönüştürücü Enzim

CTLA-4: Sitotoksik T lenfosit antijen-4



ÖZET

İdiz UO, Akut Bilier Pankreatit Mortalite ve Morbiditesinin Belirlenmesinde İmmünojenik Parametrelerin Değerlendirilmesi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2021

Pankreatitin prognozunun belirlenmesinde kullanılan skorlama sistemleri, görüntüleme yöntemleri veya kan belirteçleri pankreatit seyrini öngörmeye tek başlarına yeterli değildir. Çalışmamızda akut bilier pankreatit hastalarında hastalığın şiddetini öngörmeye immünojenotiplama ve serum sitokinlerinin önemini ortaya konması amaçlanmaktadır. Çalışmamız Temmuz 2019- Haziran 2020 tarihleri arasında akut bilier pankreatit hastaları ve sağlıklı gönüllüler dahil edilmiştir. Hastalar organ yetmezliği durumuna göre modifiye Atlanta kriterleri esas alınarak hafif, orta ve şiddetli akut bilier pankreatit olarak üç gruba ayrılmıştır. Hastalardan hastaneye başvuru anında alınan kanlardan akan hücre ölçeği ile yardımcı T hücreler, sitotoksik T hücreleri, doğal öldürücü hücreler, monositler ve immün kontrol noktalarını içeren immünojenotiplama ve IL-1 β , IFN- α 2, IFN- γ , TNF- α , MCP-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p (p70), IL-17A, IL-18, IL-23 ve IL-33 sitokin ölçümleri yapılmış ve gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Çalışmaya 24'ü hafif, 22'si orta şiddetli ve 19'u ağır pankreatit olmak üzere toplam 65 pankreatit hastası ve 20 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Akan hücre ölçeği ile yapılan immünojenotiplendirmede CD3, CD4, monosit, lenfosit, CD14⁺ hücreler üzerinde HLA-DR, doğal öldürücü hücre, klasik monosit oranları pankreatit şiddeti arttıkça azalmakta olup, CD14⁺ hücreler üzerinde PDL-1 pozitifliği, CD4 ve CD8 lenfositler üzerindeki PD-1 pozitifliği, intermediate monosit oranları ise pankreatit şiddeti ile arttığı gözlenmiştir. Ayrıca IL-6, IL-8 ve IL-33'ün pankreatit şiddeti artması ile arttığı, IL-10 ve IL-18 in yine pankreatitlerde yükseldiği fakat orta şiddette pankreatitte en yüksek düzeye ulaşırken ağır pankreatitte düşmeye başladığı görülmüştür. Sonuç olarak çalışmamız pankreatitin şiddetini öngörmeye hem lenfosit sayısı, HLA-DR, PD-1, PD-L1, doğal öldürücü hücreler ve monosit altıplendirilmesinin hem de IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-33 sitokinlerinin önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Pankreatit, İmmünojenotiplama, Sitokin, Akan Hücre Ölçeği, Atlanta

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2019-33949

ABSTRACT

Idiz UO, Evaluation of Immunological Parameters in the Determination of Acute Biliary Pancreatitis Mortality and Morbidity, İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Immunology, İstanbul, 2021

Scoring systems, imaging methods or blood markers used to determine the prognosis of pancreatitis but they are not sufficient alone. In our study, it is aimed to reveal the importance of immunophenotyping and serum cytokines in predicting the severity of acute biliary pancreatitis. Our study were performed between July 2019 and June 2020. Patients were divided into three groups as mild, moderate and severe acute biliary pancreatitis based on the modified Atlanta criteria. Immunophenotyping including helper T cells, cytotoxic T cells, natural killer cells, monocytes and immune checkpoints, and IL-1 β , IFN- α 2, IFN- γ , TNF- α , MCP-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p (p70), IL-17A, IL-18, IL-23 and IL-33 cytokine measurements were performed and compared between groups. A total of 65 patients including 24 mild, 22 moderate, 19 severe pancreatitis, and 20 healthy volunteers were included to the study. In immunophenotyping with a flow cytometry, the ratios of natural killer cells, classical monocytes, CD3⁺, CD4⁺ lymphocytes, monocytes, HLA-DR on CD14⁺ cells decreased and PDL-1 positivity on CD14⁺ cells, PD-1 positivity on CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes, and intermediate monocyte ratios increased with the severity of pancreatitis. Also IL-6, IL-8 and IL-33 increased with the severity of pancreatitis, IL-10 and IL-18 increased in pancreatitis, but reached the highest level in moderate pancreatitis and started to decrease in severe pancreatitis. In conclusion, our study showed that both lymphocyte count, HLA-DR, PD-1, PD-L1, natural killer cells and monocyte subtyping as well as IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-33 cytokines could be useful to predict the severity of pancreatitis.

Key Words: Pancreatitis, immunophenotyping, cytokine, flow cytometry, Atlanta

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University.
Project No. TDK-2019-33949

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreas besinlerin sindirilmesinde salgıladığı enzimlerle önemli rol oynamakta olup bu enzimlerin pankreas dokusunda ve çevre dokularda hasar oluşturması sonrasında oluşan inflamasyonla akut pankreatit (AP) meydana gelmektedir ¹. Bu inflamasyon sonucunda lokal veya sistemik olaylar pankreatitin şiddetini belirlemektedir. Çoğunlukla lokal bir inflamasyon şeklinde seyretmesine rağmen vakaların 1/5'inde sistemik inflamasyon gözlenebilmektedir ². Akut pankreatit şiddetli karın ağrısına sebep olmaktadır. Bunun yanında bulantı, kusma, ateş, solunum yetmezliği, genel durum bozukluğu, organ yetmezlikleri gözlenebilmektedir. Serum amilaz lipaz değerlerinin normalin üç kat ve daha yüksek olması ve görüntüleme yöntemleri ile pankreasın inflamatuvar değişiklikleri tanı koymada önemlidir ³.

Akut pankreatit şiddetini ve hastanın prognozunu belirlemede çeşitli sınıflama sistemleri bulunmaktadır. Bunlardan en sık kullanılan ve bilinenleri Ranson Kriterleri, ATLANTA, Imrie Skorlama Sistemi olup bunlara göre hastalık genel olarak hafif, orta ve ağır olmak üzere üç dereceye ayrılmaktadır ⁴⁻⁶. Hastalığın şiddeti ile organ yetmezliği ve mortalite oranları da artmaktadır ⁷. Hastalarda meydana gelen böbrek ve solunum yetmezliği, pankreatik nekroz, yoğun bakımda yatış süresinin uzaması ve şok genel olarak kötü prognostik faktörler olarak yorumlanmaktadır ⁸.

Pankreatitin prognozunun belirlenmesinde bu skorlama sistemleri yanında birçok biyokimyasal parametre üzerinde de çalışılmıştır ⁹. Prognozu belirlemede kullanılan bu skorlama sistemleri, görüntüleme yöntemleri veya kan belirteçlerinin morbidite ve mortaliteyi öngörmeye tek başlarına yeterli olmadığı görülmüştür ¹⁰. Akut pankreatit hastalarının %10-20'sinde hastalık ağır bir şekilde seyretmekte ve bu hastalarda ise %30'a varan mortalite oranları saptanmaktadır ^{11, 12}. Akut pankreatitin spesifik tedavisi olmaması, genellikle uygulanan tedavinin destek tedavisi olmasına rağmen, ağır pankreatit hastalarına uygulanan erken dönemde agresif sıvı replasmanı, organ hasarı takibi, uygun antibiyoterapi, gerektiğinde endoskopik sfinkterotomi ve radyolojik girişimlerden çok yarar sağlayabilmektedir ¹³. Bu sebeplerden AP tanısı konulan hastalarda hastalığın gidişatının tanı anında belirlenmesi, tedavi ve sağ kalım için son derece önemlidir.

Akan hücre ölçer tek tek hücreleri veya partikülleri bir veya birkaç lazerin önünden geçerken hızlı şekilde analiz edebilen bir teknolojidir. Bu teknoloji immünoloji, viroloji, moleküler biyoloji, kanser biyolojisi ve infeksiyöz hastalıkların izlenmesinde birçok disiplinin kullanımına uygundur. İmmunofenotipleme akan hücre ölçerde en sık kullanım alanıdır. Çok sayıda parametre için karışık hücre popülasyonlarını aynı anda analiz etme gibi eşsiz bir yeteneği vardır. En basit haliyle, immünfenotipleme; hücre yüzeylerinde bulunan anjijenlere karşı florokrom boyalı antikorlar kullanılarak hücrelerin tanımlanması ve sınıflandırılmasıdır. Hücre yüzeyinde bulunan bu antijenlere yüzey farklılaşma antijenleri (CD) denir ve İnsan Lökosit Farklılaşma Çalıştayları'nda isimlendirilmektedirler ¹⁴.

Akut pankreatitin değerlendirilmesinde immün parametrelerle ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma mevcut olup, çalışmalarda özellikle periferik kanda CD4⁺, CD8⁺ T lenfosit ve regülatuar T hücre (Treg) popülasyonu ile interlökin (IL)-1, IL-6 gibi serum inflamatuvar belirteçleri değerlendirilmiştir ¹⁵⁻¹⁷. Akut pankreatit hastalarında inflamatuvar belirteçler özellikle anti-inflamatuvar IL-10 düzeylerinin yükseldiği, yine inflamatuvar belirteçlerden CRP ve IL-1 β düzeylerinin organ yetmezliği hastalarında yüksek saptandığı belirtilmektedir ^{15, 18}. Yapılan çalışmalarda, Treg hücrelerinin AP şiddetini belirlemede bağımsız bir prognostik faktör olduğu belirtilmektedir ¹⁶. Literatürde AP hastalarında T lenfositlerde programlı hücre ölüm proteini 1 (PD-1) değerlerinin ve monositlerde programlı hücre ölüm protein ligandı 1 (PD-L1) değerlerinin belirlendiği sınırlı sayıda hasta içeren tek bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, PD-L1'in infeksiyöz komplikasyonları belirlemede yeni bir belirteç olarak kullanılabileceği belirtilmektedir ¹⁷.

Çalışmamızda AP hastalarında hastalığın şiddetine göre immünfenotiplemede ve serum sitokinlerinin değerlerinde farklılık olup olmadığının ve AP seyrinin öngörülmesinde bakılan parametrelerin öneminin ortaya konması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreasın Tarihsel Gelişimi

Pankreas ilk kez milattan önce 2. yüzyılda Herophilus tarafından tanımlanmış olup isimlendirilmesi ise milattan sonra 2. yüzyılda Rufus tarafından gerçekleştirilmiştir¹⁹. Akut ve Kronik pankreatit tanımları Pare tarafından 16. yüzyılda, pankreatite bağlı abse ve gangrenöz pankreatitin patolojik tanımlaması Ancelet tarafından 19. yüzyılda yapılmıştır^{20, 21}. Deneysel pankreatit modellemesi 19. yüzyılda Claude Bernard tarafından, AP'in farklı formlarının tanımlaması ise Senn tarafından yine 19. yüzyılda gerçekleştirilmiştir¹⁹.

Reginald Fitz AP ve buna bağlı gelişen komplikasyonların patofizyolojisini yayınlamıştır²². Akut pankreatitin en sık nedeni olan safra kesesi taşı ile pankreatit arasındaki bağlantı Opie tarafından 20. yüzyılın başında bildirilmiştir. Yine Opie ampulla, pankreatik kanal ve ana safra yolları anatomisini ortaya koyarak, obstrüksiyonları durumunda pankreatit gelişebileceğini belirtmiştir²³.

Kan amilaz düzeyi ile AP arasındaki ilişki 1929'da Elman tarafından ortaya konmuştur²¹. Deneysel AP modellerinde süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin AP'e karşı koruyucu olabileceği 1984'de Santfey ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir²⁴.

Akut pankreatit tedavisinde 1950'lere kadar cerrahi tedavi uygulanmakta olup hastaların mortalite ve morbidite oranları yüksek seyretmekteydi. Sonrasında ise medikal tedavinin cerrahinin yerini alması ile yaşam sürelerinde belirgin yükselme görüldü.

Bilgisayarlı tomografi ve C reaktif proteinin AP hastalarında kullanılmaya başlanması ile nekrotizan pankreatit tanısının cerrahi uygulanmadan koyulmasına olanak tanıdı. 1990'ların başlarında yapılan çalışmalar özellikle steril pankreatik nekrozu olan hastaların cerrahi uygulanmadan tedavi edilmesi gerektiğini bildirmektedir²³. Atlanta sempozyumunda (1992) AP'in klinik olarak sınıflandırılması ve pankreatik nekroz, abse, pseudokist gibi durumların tanımlamaları gerçekleştirilmiştir²⁵.

2.2. Pankreas Embriyolojisi

Pankreas düz bir boru gibi olan önbağırsağın ön ve arka kısmından fetal dönemin dördüncü haftasında iki tomurcuk olarak çıkar. Ön kısımdan çıkana ventral, arka kısımdan çıkana ise dorsal tomurcuk adı verilir. Önbağırsak zamanlar kıvrılarak “C” şeklini alıp sağa doğru dönerek doudenumu oluşturur ve pankreas tomurcukları sağa doğru dönerek birleşir. Doudenum dönmeye devam ettikçe birleşen bu tomurcuklar sola doğru yer değiştirir. Ventral tomurcuk pankreasın başının kaudal kısmı ve processus uncinatusu, dorsal tomurcuk ise pankreas başının kranial kısmı, pankreas gövdesi ve kuyruğunu oluşturur. Ventral ve dorsal pankreas kanalları da birleşerek ana pankreatik kanal olan Wirsung kanalını oluşturur. Ventral ve dorsal kanallar popülasyonun %5-10’unda birleşmez ve dorsal pankreas kanalı aksesuar kanal olan Santorini kanalı ile minör papillaya direne olur. Dorsal kanal ile birleşsin veya birleşmesin ventral kanal safra kanalı ile birlikte papilla vateriye açılır ²⁶.

2.3. Pankreas Histolojisi

Pankreas histolojik olarak sindirim enzimleri üreten ekzokrin ve hormon üreten endokrin olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Pankreasın endokrin bölümü Langerhans adacıklarından meydana gelir ve glukagon salgılayan Alfa hücreleri, insülin salgılayan Beta hücreleri, somatostatin salgılayan delta hücreleri ve pankreatik polipeptit salgılayan F hücrelerinden meydana gelir ²⁶.

Sindirim enzimleri ekzokrin pankreastaki hücreler tarafından depolanır ve salgılanır. Ekzokrin pankreasın dış kısmı ince bir kapsül ile çevrilidir ve birleşik tübüloalveolar hücrelerden oluşur. Bazal kısmı bazofilik, zimojenik granüller içeren üst kısmı ise asidofilik boyanır.

Pankreas salgılarının toplandığı Wirsung kanalı ve alternatif kanal olan Santorini kanalı yüksek prizmatik veya yalancı çok katlı epitelle döşelidir. Bu hücreler arasında goblet ve enteroendokrin hücreler yer alır.

Eksokrin pankreas su, sodyum ve bikarbonat iyonları, amilaz, triağılglicerol lipaz, karboksipeptidaz, tripsinojen, ribonükleaz, kimotripsinojen, deoksiribonükleaz, fosfolipaz A2 ve elastaz salgılar. Bu salgı sentroasiner hücreler ve interkalar kanal hücreleri tarafından oluşturulur.

Pankreas salgısının kontrolü duodenum mukozasındaki enteroendokrin hücreler tarafından üretilen sekretin ve kolesistokinin hormonları tarafından olur. Pankreas salgısı ayrıca otonomik sinirler tarafından da kontrol edilmektedir. Sempatik inervasyon pankreasın kanlanması, parasempatik inervasyon ise sentroasiner hücrelerin ve asinüslerin aktivitesini kontrol etmektedir ²⁷.

2.4. Pankreas Anatomisi

Pankreas retroperitoneal bölgede, sağında duodenum, solunda dalak olacak şekilde transvers planda uzanmaktadır. Kranialinde omentum bursa, kaudalinde büyük omentum, önde transvers mezokolonla komşudur. Pankreas genel olarak beş bölgeden oluşmaktadır.

Baş: Yassı bir şekilde olup ön ve arka yüzü bulunmaktadır. Önyüzü pilor ve transvers mezokolona bitişiktir. Anterior pankreatikoduodenal damar duodenuma paralel bir şekilde pankreasın baş kısmının ön yüzü üzerinde seyrederek. Posterior pankreatikoduodenal damar ise posterior yüzü üstünde duodenuma paralel olarak seyrederek. Pankreas başı duodenal halkaya yapışık durumdadır. Pankreasın baş kısmı ortak safra kanalının üçüncü kısmı ile varyasyonel olarak çeşitli şekillerde birliktelik göstermektedir ²⁸.

Unsinat Çıkıntı: Pankreas başının şekil ve büyüklük açısından oldukça değişken bir uzantısıdır. Pankreas baş kısmından aşağıya ve sola dönüp, süperior mezenterik damarların arkasından aorta ve inferior vena kavamı önünden devam eder. Kranialinde renal ven, kaudalinde duodenum bulunur. Unsinat çıkıntı bazen bulunmayabilir veya süperior mezenterik damarları tamamen çevreleyebilir. Süperior mezenterik arter ve venden gelen kısa damarlarla beslenir ²⁸.

Boyun: Süperior mezenterik damarların geçtiği ve pankreasın dorsalinde portal venin başladığı yer olarak tanımlanabilir. Yaklaşık 1,5-2 cm uzunluğunda olup önden pilor tarafından örtülmüştür. Gastroduodenal arter pankreas boyunun sağından geçerken anterior süperior pankreatikoduodenal arter dalını verir. Boynun arkasında süperior mezenterik ven ve splenik venlerin birleşmesiyle portal ven oluşur.

Gövde: Pankreas gövdesinin ön yüzü, mide ve pankreası birbirinden ayıran omental bursanın iki tabakalı peritonuyla örtülüdür. Gövde aynı zamanda transvers mezokolonla da ilişkilidir. Transvers mezokolon pankreasın ön yüzünü kaplayan üst

yaprak ve pankreasın altından geçen alt yaprak olmak üzere iki yaprağa ayrılır. Arkada pankreasın gövde kısmı aorta, süperior mezenterik arterin başlangıcı, sol böbrek ve damarları, sol sürrenal bez ve sol dalak veni ile komşudur ²⁸.

Kuyruk: Pankreasın kuyruğu nispeten mobildir ve insanların %50'sinde dalak hilusuna kadar uzanmaktadır. Pankreasın kuyruğu splenik arter ve dalak veninin başlangıç kısmıyla birlikte splenorenal ligamentin iki yaprağı arasında bulunmaktadır.

Pankreasın kanalları: Ana pankreas kanalı ve minör kanal pankreas damarlarının önünde uzanmaktadır. Ana pankreas kanalı olan Wirsung kanalı pankreasın kuyruğundan pankreas başına kadar seyrederek. Kuyruk ve gövdede Wirsung kanalına dik olarak açılan 15-20 adet kısa duktus bulunur. Ayrıca Wirsung'a unsinat çıkıntıdan gelen bir kanal da açılmaktadır. Bazı insanlarda aksesuar kanal ana kanalla birleşmektedir. Pankreasın baş kısmındaki bazı küçük kanalcıklar doğrudan koledok kanalına açılabilir. Wirsung majör papilla düzeyinde koledokun alt yüzünden bu kanal ile birleşerek doudenuma girer. Aksesuar pankreatik kanal olan Santorini, pankreas başının anterosüperior bölümünü, minör papillaya açılarak doğrudan doudenuma veya Wirsung'a drene eder. Wirsung ve Santorini kanallarına ait birçok varyasyon tanımlanmaktadır ²⁸.

Pankreasın Damarları: Pankreasın arteriyel kanlanması majör olarak üç kaynaktan olmaktadır; ana hepatik arterin gastroduodenal dalı, superior mezenterik arter ve splenik arter. Gastroduodenal arterin dalı olan superior pankreatikoduodenal arter pankreasın başı ve unsinat çıkıntısı, superior mezenterik arterin dalı olan inferior pankreatikoduodenal arter ise pankreas gövde ve kuyruk kısmının beslenmesinde rol oynamaktadır. Splenik arter ise, pankreasın üst kenarı boyunca uzanarak pankreasa birçok küçük dal vererek pankreasın beslenmesine katkıda bulunur. Pankreasın venöz drenajı arterlerine paralel olarak seyreden venlerle olmaktadır. Süperior pankreatikoduodenal ven, vena portaya, inferior pankreatikoduodenal ven ise superior mezenterik vene drene olmaktadır ²⁸.

Pankreasın Lenfatik Drenajı: Pankreasın lenfatik drenajı pankreas parankimi içerisindeki interlobüler alandan başlayarak küçük kanalcıklar şeklinde pankreas yüzeyine ulaşır. Pankreasın lenfatik drenajı, pankreas etrafında yerleşen bölgesel lenf bezlerine olmaktadır. Arter ve venlerle olduğu gibi lenfatik kanallar da pankreasın damarlarına paralel olarak seyretmektedir. Pankreasın baş bölgesinin lenfatik drenajı ilk olarak anterior ve posterior pankreatikoduodenal lenf bezlerine, oradan pankreasın kaudalinden bağırsakların lenfatik kanallarına açılır ve sonrasında bağırsakların lenfatik

kanalları ile birlikte jukstaaortik ve aort çevresi lenf bezlerine ulaşırlar. Pankreastan ayrılan bir kısım lenfatik ise bu yolu takip etmeyerek lomber bölgedeki lenfatik kanallara oradan cisterna chyli veya duktus torasikusa açılmaktadır ²⁸.

2.5. Pankreas Fizyolojisi

Pankreasın, sindirimde rol oynayan ekzokrin ve hormonal regülasyonda rol oynayan endokrin işlevleri vardır. Endokrin pankreas işlevlerini Langerhans adacıklarında bulunan hücreler yerine getirmektedir. Langerhans adacıklarındaki hücreler morfolojik ve boyanma özelliklerine göre üç tipe ayrılmaktadır. Beta hücreleri; İnsulin salgılayan hücreleridir ve adacık hücrelerinin %60-80'ini oluşturmaktadırlar. Alfa hücreleri; Glukagon salgılayan hücreleridir ve adacık hücrelerinin %10-20'sini oluşturmaktadırlar. Delta hücreleri; Somatositatin salgılayan hücreleridir ve adacık hücrelerinin %10'unu oluşturmaktadırlar ²⁹.

Pankreasın ekzokrin salgısından asinüsler sorumlu olup, günlük olarak yaklaşık 1500-2000 cc izotonik, renksiz ve pH'sı 8,0 ile 8,3 arasında olan alkali salgı yapmaktadırlar. Bu salgı içerisinde birçok sindirim enzimi bulunmakta olup önde gelen katyonlar sodyum ve potasyum, önde gelen anyonlar ise klor ve magnezyumdur. Yemekle birlikte ekzokrin salgı hız değişmektedir. Artan hızla birlikte bikarbonat konsantrasyonu artar, klor konsantrasyonu ise azalır. Burdaki bikarbonatın rolü midede asidik hale gelen ve doudenuma geçen yemeklerin nötralize edilmesidir. Pankreasın ekzokrin salgısı 0,3mg/ml olacak şekilde protein içermekte olup bu proteinlerin çok büyük bir kısmı sindirimde görev alan proenzimler ve enzimleridir. Proteinlerin sindiriminde rol alan tripsin (en çok) ve kimotripsin, proteinlerin peptitlere parçalanmasında rol oynarken, karboksipeptidazlar peptitleri aminoasitlere, ribonükleaz ve deoksiribonükleazlar ise nükleik asitleri parçalamaktadırlar. Karbonhidratların disakkarit ve trisakkaritlere parçalanmasında rol alan asıl enzim amilazdır. Yağ sindiriminde görev alan ekzokrin pankreas enzimleri lipaz, fosfolipaz ve kollersterol esterazdır.

Pankreasın ekzokrin salgısında bulunan enzimler inaktif halde sentez edilerek barsağa dökülünce aktif hale geçerler. İnaktif formda üretilmelerinin sebebi pankreasın kendisine de zarar verme olasılıklarıdır. Ekzokrin pankreas salgısı yapan hücreler bu proteolitik enzimlerle birlikte tripsin inhibitörü denen bir inhibitör salgırlar. Diğer proteolitik enzimlerin aktivasyonu için tripsinin aktive olması gerektiğinden, tripsin inhibitörleri dolaylı olarak diğer proteolitik enzimlerin de inaktif formda kalmasını sağlar.

Pankreas kanal tıkanıklıkları ve pankreas hasarında pankreasta biriken tripsini inhibe edecek yeterli inhibitör üretilemez ve aktive olan ekzokrin pankreas salgısı pankreasın dejenerasyonu ve AP'e neden olmaktadır ^{27, 30}.

Bunun yanında AP'de aktive olan polimorfonükleer lökositler (PMNL) salgıladıkları oksidanlar ile potolojinin gelişmesinde büyük rol oynamaktadırlar ³¹. Lökositlerden salgılanan sitokinler olan IL-1 ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), IL-2, IL-6, IL-10 ve nitrik oksit (NO) ile serbest radikaller pankreatitin ilerlemesinde rol almaktadırlar. Salgılanan bu sitokinler damar duvar geçirgenliğini arttırıp ödem ve trombüs oluşumuna, pankreatitte gözlenen ateş, hipotansiyon, yaygın damar içi pıhtılaşma, şok gibi lokal ve sistemik birçok bulgunun gelişmesine katkı sağlarlar. Sonuç olarak pankreas mikrosirkülasyonu bozulur ve pankreatik nekroz gelişir ³².

Pankreasın ekzokrin salgısının kontrolü hem sinirsel hem de hormonal mekanizmalarla olmaktadır. Nervus vagustan gelen uyarılar salgı içerisindeki enzimlerin yoğunluğunu arttırır. Ayrıca bu vagal uyarı mide asit salınımını arttırarak da indirekt olarak ekzokrin salgının artmasına sebep olur. Pankreatik ekzokrin salgının hormonal kontrolü esas olarak doudenümden salgılanan sekretin ve kolesistokinin hormonları tarafından olmaktadır. Bunun yanında gastrin, glukagon ve pankreatik polipeptit de az da olsa ekzokrin salgının kontrolünde rol oynamaktadır ²⁷.

2.6. Akut Pankreatit

Akut pankreatit, pankreasın salgıladığı ve normalde inaktif olan enzimlerin aktifleşmesi ile pankreasın ve etraf dokuların hasarlanması, bunun sonucunda meydana gelen inflamasyonun oluşturduğu gerek lokal gerekse sistemik etkiler ile oluşan klinik durumdur ²⁷. Pankreatit lokal olarak sadece pankreasta sınırlı kalabileceği gibi, sistemik etkiler ile çoklu organ yetmezliği şeklinde de seyredebilmektedir ⁴.

Akut pankreatitin klinik seyri semptomsuz olabileceği gibi %15-20 hastada aşırı inflamatuvar yanıt, buna bağlı çoklu organ yetmezliği ve ölüm ile sonuçlanabileceğinden pankreatitin şiddetinin objektif bulgular ile değerlendirilmesi gerekmektedir ^{5, 33}. Akut pankreatit tanısı, hastanın sıralanan üç kriterden ikisini taşıması durumunda koyulur; ani başlayan karın üst bölgede ağrı, serumda pankreatik enzimler olan amilaz ve/veya lipazın normal serum düzeyinin üst sınırından üç kat ve fazla yükselmesi, görüntüleme yöntemleri ile pankreastaki ödem ve inflamasyonun saptanması ³⁴.

Akut pankreatite bağı mortalitelerin yaklaşık 1/3'ü pankreatitin başlangıcından ilk bir hafta içerisinde çoklu organ yetmezliğine bağı gelişirken, sonrasında gözlenen mortaliteler genellikle pankreatik nekrozun enfekte olması sonucunda gelişen komplikasyonlarla ilişkilendirilmektedir³⁵.

2.6.1. Akut Pankreatit Etyolojisi

Akut pankreatit insidansı 4.9-35/100.000 olarak bildirilmekte olup, obezite ve safra kesesi taşı oranlarının artmasıyla her yıl insidansı artmaktadır^{36, 37}. En sık 30-60 yaşları arasında gözlenmektedir ve cinsiyet dağılımı açısından farklılık saptanmamıştır. Akut pankreatitin en sık sebebi safra kesesi taşıdır. Sonrasında sırasıyla alkol kullanımı, ilaçlar ve diğer sebepler gelmektedir³⁸. İlaçlardan en sık; tetrasiklin, sulfonamid, vinka alkaloidler, diüretik, L- asparaginaz, salisilat, valproik asit, didanozin grubu ilaçlar sitotoksik etkileri ile veya hiperkalsemiye sekonder olarak pankreatit oluşturabilmektedirler^{39, 40}. Kan trigliserid düzeyindeki yükseklikler (trigliserid >1000 mg/dl) pankreatite sebep olmasına rağmen trigliserid düzeyinin yüksekliği ile pankreatit şiddeti arasında bir ilişki saptanamamıştır⁴¹. Bunların yanında birçok viral enfeksiyöz ajan da (koksaki virüs, kabakulak virüsü vb) akut pankreatite neden olabilsede, nasıl bir rol üstlendikleri tam olarak belli değildir. Paraziter enfeksiyözler ise pankreatik kanalın tıkanması yoluyla pankreatit gelişmesinde rol oynamaktadırlar. Bu sebeplere ek olarak iyatrojenik olarak da (endoskopik retrograd kolanjiyo pankreatografi (ERCP), gastrektomi, koledok cerrahisi, kardiyopulmaner bypass, kalp nakli vb.) pankreatit meydana gelebilmektedir³⁸.

2.6.2. Akut Pankreatit Patogenezi

Akut pankreatit patogenezinde nedene göre birçok hipotez geliştirilmiştir. Alkolün neden olduğu AP'in duktusa bağı, damarsal patolojilere bağı ve hormonal dengesizliğe bağı geliştiği öne sürülmekle birlikte bunlardan en kabul göreni AP'in duktusların tıkanmasına bağı geliştiğidir. Bu hipotezde uzun süreli alkol kullanımına bağı olarak bazal pankreatik salgının bikarbonat ve sudan fakir ama proteinden zengin olduğu, bu salgıya bağı da pankreatik tıkaç meydana geldiği savunulmaktadır. Böylece inaktif olarak salgılanan pankreatik enzimler aktif hale geçer ve akut pankreatit meydana gelir⁴².

Safra kesesi taşına bağı gelişen pankreatitte en çok kabul gören hipoteze göre taşlar koledoktan doudenuma doğru geçerken oddi sfinkterinde geçici bir fonksiyon

bozulmasına neden olur. Böylece karaciğerden gelen safra akışı pankreasa doğru yönelir, pankreatik kanal basıncı artar ve bunun sonucunda pankreatik enzimler pankreas içerisinde aktive olarak AP meydana gelir ⁴³.

Her ne sebeple olursa olsun AP gelişiminde pankreastan inaktif olarak üretilen proenzimlerin uygun olmayan aktivasyonu ile pankreasın asiner hücrelerinde inflamatuvar yolaklar tetiklenerek hücre hasarı başlar. Proaktif olarak salgılanan enzimlerden ilk olarak aktifleşen tripsinojendir ve tripsine dönüşerek diğer proaktif enzimlerin aktifleşmesi gerçekleşir. Tripsinojenin tripsine dönüşmesi N terminalinde bulunan tripsin aktive edici peptitin hidrolizi ile gerçekleşir. Sonuçta başlayan inflamasyon lokal inflamatuvar bir cevaptan çoklu organ yetmezliğine değişen klinik bulgulara ve AP'e bağlı mortalite ve morbiditeye sebep olur ⁴⁴.

Pankreatitin patofizyolojisini açıklamak için birçok deneysel çalışma yapılmıştır. Bunlardan bazılarında serum sitokin değerleri de incelenmiştir. Bu çalışmalarda pankreatik hasarda IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerle birlikte makrofajlar, nötrofiller ve lenfositler gibi birçok inflamatuvar hücrenin rol oynadığı anlaşılmıştır ⁴⁵. Akut pankreatitte makrofajların aktive olması ile TNF- α ve IL-1 gibi sitokinlerin salgılanması inflamasyonun şiddeti ile ilişkilendirilmektedir. Deneysel modellerde serum IL-1 ve TNF- α değerleri yüksek bulunmuş ve IL-1 ile TNF- α antagonistlerinin AP'nin şiddetini azalttığı gösterilmiştir. Bir diğer proinflamatuvar sitokin olan IL-6, AP'te inflamasyonun başlangıcından sonraki 24-48. saatlerde serumda maksimum seviyesine ulaşmaktadır. İnflamasyonda rol oynayan ve kemokin olarak görev alan IL-8, nötrofil, makrofaj ve endotel hücrelerinden salgılanır inflamasyonun şiddeti ile bağlantılıdır. Bu ve bunlar gibi birçok sitokin hastalığın klinik gidişatı, şiddeti, morbidite ve mortalitesi ile yakından ilişkilidir ⁴⁶.

Akut pankreatit patogeneğinde serbest oksijen radikallerinin de rol oynadığı düşünülmektedir. Enzimatik olarak meydana gelen lipid peroksidasyonunun sonucu olarak glutatyonda azalma meydana gelmektedir. Yapılan deneysel hayvan modellerinde antioksidanların pankreatit seyrinde olumlu etkileri gözlemlenmiştir ⁴⁷.

Meydana gelen bu inflamatuvar değişiklikler ile genellikle kendini sınırlandıran, hafif yağ nekrozu ve inflamatuvar hücre göçü ve interstisiyel ödem ile karakterize ödematöz nitelikte bir pankreatit meydana gelir. Akut pankreatit vakalarının %70-80'inde hastalık bu şekilde seyreder. Genellikle pankreasta herhangi bir hasar

bırakmadan iyileşmektedir ⁴⁸. İnflamasyon bu aşamada sınırlanmaz, yağ dokusundaki nekroz koagülasyon nekrozu şeklinde ilerlemeye devam ederse daha ağır seyreden nekrotizan pankreatit gelişebilir. Nekrotizan pankreatitte pankreastaki nekroz görünümü dışında retroperitonda, pankreasa komşu duodenum, kolon ve midede de inflamasyona bağlı ödem gözlenmektedir. Bu nekroze pankreasın damarlarının aktive elastaz ile parçalanmasıyla hemorajik pankreatit meydana gelir ve karında Cullen belirtisi denen cilt altı ekimozlara sebep olabilir. Aynı zamanda dalak pedikülü ve kolon mezosunda da kanamalar gözlenebilmektedir. Pankreasın lobüllerinin etrafında vasküler tıkanıklıklar pankreatik nekroz alanları için tipiktir. Nekroz ile birlikte mononükleer hücre infiltrasyonu sık gözlenmektedir. Nekrotizan pankreatitin iyileşmesi sonrasında pankreas asinüs ve pankreatik kanallarda kalıcı hasar ve fibrozis meydana gelir ⁴⁹. Nekroze pankreasın, pankreatik mayinin ve hemorajinin pankreas dokusu ve etrafında oluşturduğu kistik yapıya pankreatik psödokist denir. Bu kistik yapıların enfekte olması durumunda ise psödokist absesi meydana gelir ³⁸.

2.6.3. Semptomlar ve Bulgular

Akut pankreatit hastaların ortak semptomu ağrı olup, yemek sonrası epigastrik bölgeden ani ve keskin tarzda başlayıp sırtta doğru yayılmaktadır. Ağrı başangıcından itibaren hafif pankreatitte genellikle üç gün içerisinde gerilemekte olup, üç günden uzun sürmesi ağır pankreatit düşündürmektedir. Batın muayenesinde epigastrik bölgede hassasiyet olmasına rağmen defans ve rebound bulguları olmamaktadır. İkinci en sık semptom ise hastaların %80'inde gözlenen bulantı ve kusmadır. Bunun yanında hastaların yarısından fazlasında diğer semptomlara ateş eşlik etmektedir. Ateş steril veya enfekte pankreatit olgularında gözlenebilmektedir. Tedaviye rağmen gerilemeyen ateş durumunda pankreatik nekroz, pankreas absesi gibi komplike olaylar düşünülmelidir. Bunlarla birlikte hastalığın şiddetiyle korele olarak taşikardi, takipne, hipotansiyon ve batın distansiyonu da gözlenebilmektedir. Batın distansiyonu ya bağırsak aktivitesinin azalmasına ya da pankreatite bağlı gelişen batın içi sıvıya sekonder olabilir. Batın içi sıvıya ek olarak sol hemitoraksta daha fazla olmak üzere plevral efüzyon da izlenebilmektedir.

Pankreatit şiddetiyle orantılı bir şekilde intravasküler volümde azalma, hipotansiyon, hemokonsantrasyon meydana gelebilmektedir. Ağır vakalarda pankreatik damarlarda kanamaya bağlı retroperitoneal alandan göbek çevresinde (Cullen belirtisi) ve

lomber bölgede (Grey-Turner bulgusu) ekimotik alanlar gözlenebilmektedir. Üçüncü boşluklara sıvı kaçışına bağlı olarak meydana gelen hipovolemi, hastalarda prerenal azotemi ve böbrek yetmezliğine sebep olabilmektedir. Laboratuvar bulguları olarak hiperglisemi, hipoalbuminemi ve hipokalsemi akut pankreatite sıklıkla eşlik eder⁵⁰.

2.6.4. Tanıda Kullanılan Görüntüleme Metodları

- Ayakta direkt batin grafisi; Batin içi inflamasyona bağlı olarak psoas kası ve böbrek konturlarında silikleşme, pankreasa komşu ince barsakta sentinal loop görünümü, transvers kolonda gaz gözlenebilse de çok spesifik bulgular vermemektedir.

- Ultrasonografi; Ultrasonografi ile pankreatite ait görüntülerin (pankreatik ödem, wirsung genişlemesi, psödokist ve pankreatik abse, batin içi asit) saptanabilme oranı %75-85 olmasına rağmen bu bulguların hepsi batin içi gaz distansiyonu nedeniyle saptanamayabilmektedir.

- Abdominal bilgisayarlı tomografisi (BT); Tanı ve takipte en yararlı görüntüleme yöntemi olup, intravenöz olarak verilen kontrastla görüntüleme yapıldığında nekroz, kanama ve vasküler patolojiler hakkında bilgi vermektedir. Hafif pankreatitte pankreasta ödem ve etraf dokularda kirlenme gözlenirken hastaların 1/4'ünde patolojik bir görünüm gözlenmeyebilir.

- Manyetik rezonans görüntüleme (MR) ve manyetik rezonans kolanjiopankreatikografi (MRCP); MR ve MRCP'nin akut pankreatitteki kullanımı giderek artmaktadır. Pankreatit şiddetini ve pankreatik nekrozu göstermede BT'ye yakın oranlarda faydalıdır^{51, 52}.

- Endoskopik retrograd kolanjio pankreatikografi; Tanı ve tedavide kullanılabilmesine karşın komplikasyonları olması sebebiyle günümüzde genellikle tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır⁵³.

2.6.5 Akut Pankreatit Tedavisi

Akut pankreatit tanısı alan hastaya uygulanan tedaviler genellikle medikal destek tedavisi şeklindedir. Böylece pankreasın salgısının azaltılması ve inflamasyonun azaltılması hedeflenmektedir. Tedavide hipovolemi için intravenöz sıvı tedavisi, pankreas salgısının azaltılması ve kusma için oral alımın kısıtlanması, inflamasyon ve ağrının azaltılması için non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar kullanılır. Bunlar dışında rutin antibiyoterapinin tedavide yeri yoktur⁵⁴. Enfeksiyöz komplikasyonlar gelişmesi

durumunda antibiyoterapi kullanılır. Intravenöz sıvı tedavisi ile pankreasın makro ve mikrovasküler dolaşımının sağlanması, pankreas nekrozu gelişmesinin önüne geçmede önemlidir ⁵⁵. Safra kesesi taşına bağlı pankreatitte tedavide ERCP ile safra yolları ve pankreatik kanalların drenajı gerekebilmektedir fakat ERCP'nin kendisinin bile pankreatite sebep olabileceği unutulmamalıdır. Ağır pankreatit olgularında yukarıdaki tedavilere ek olarak solunumsal destek, kardiyak destek tedavileri ile yoğun bakım ihtiyacı gerekebilmektedir ⁵⁴.

Medikal tedavi ile hastaların yaklaşık %80'i ilk hafta içerisinde tedavi olmaktadır. Hastaların %20'sinde ise medikal tedaviye rağmen ağır ve nekrotizan pankreatit gelişebilmektedir ⁵⁴.

2.6.6. Akut Pankreatitte Prognostik Kriterler

Akut pankreatitte semptom ve bulgular geniş bir yelpazeye dağıldığından ve pankreatitin klinik gidişati hakkında yeterli bilgi vermediğinden günümüzde birçok skarlama sistemi prognoz hakkında bilgi vermesi amacıyla kullanılmaktadır.

Pankreatit şiddetini değerlendirmede ilk olarak kullanılan sınıflama sistemi 1974'de, hastanın hastaneye başvuru anındaki ve başvurudan 48 saat sonraki bulguları üzerinden değerlendirme yapan Ranson sınıflamasıdır (tablo 2.1). Bakılan parametrelerin <3 tanesinin pozitif olması durumunda %0-3, 3-6 tanesinin pozitif olması durumunda %11-15, ≥6 tanesinin pozitif olması durumunda ise >%40 mortalite oranları bildirilmektedir ^{34, 56}.

Tablo 2-1: Biliyer pankreatitte Ranson kriterleri (49)

İlk Başvuru	48. saat
Yaş>70	>%10 hematokrit düşmesi
>18.000/mm ³ beyaz küre	>2mg/dL kan üre azotu (BUN) artışı
>220 mg/dL glukoz	<8 mg/dL serum kalsiyum
>400IU/L laktat dehidrogenaz (LDH)	< 60 mmHg parsiyel oksijen basıncı (PaO ₂)
>250 IU/dL aspartat aminotransferaz (AST)	>5 mEq/L baz açığı
	>4 L sıvı birikimi

İmrie (modifi Glasgow II skorlaması) skorlama sistemi ise kullanılan başka bir skorlamadır. Hastaneye başvurudan ilk 48 saat içerisinde bakılan parametrelere göre yapılan değerlendirmede ≥ 3 skor olması şiddetli pankreatit lehinedir ⁵⁷ (tablo 2.2).

Tablo 2-2: İmrie skorlaması

PaO₂	<60 mmHg
Yaş	>55
Beyaz küre	>15.000/mm ³
Kalsiyum	<8mg/dL
BUN	>16 mg/dL
LDH	>600 IU/L
AST	>200 IU/L
Albumin	<3,2 mg/dL
Glukoz	>180 mg/dL

Hem Ranson hem de İmrie skorlamasında 48 saatten önce pankreatit prognozu hakkında bilgi sahibi olunamaması bu sistemlerin kullanımını kısıtlamaktadır.

Bu sebeplerden kritik hastaların değerlendirilmesinde kullanılan akut fizyolojik ve kronik sağlık değerlendirmesi (APACHE) II skarlama sistemi pankreatit için kullanılmıştır. APACHE II skarlama sisteminde hastanın ateş, ortalama arteriel basınç, kalp hızı, solunum hızı, oksijenasyon, arterial pH, serum bikarbonat, serum sodyum, serum potasyum düzeyi, serum kreatinin seviyesi, hematokrit yüzdesi, beyaz küre sayısı, Glasgow koma skoru değerlendirilerek bir puanlama yapılmaktadır. İyi bir negatif prediktif değere sahip olmasına rağmen pozitif prediktif değeri orta seviyededir. Günlük olarak bakılan skorlar ile 48 saat içerisinde skorun düşmesi hafif pankreatit, yükselmesi ise şiddetli atağı düşündürmektedir. Toplam skor <8 ise mortalite oranı <%4, skor >8 ise mortalite oranı ise %11-18 aralığında bildirilmektedir^{34,58}. Bu skarlamanın dezavantajları kompleks olması, ödematöz ve nekrotizan pankreatiti veya enfekte ve steril pankreatiti birbirinden ayıramaması, hastanın beden kitle indeksinin skarlama olmamasıdır³⁴.

İlk olarak Atlanta'da 1992'de gerçekleştirilen bir toplantıda kabul edilen sonrasında ise 2013'de modifiye edilen Atlanta skarlama sistemi AP değerlendirmesinde uygulanan bir diğer skarlama sistemidir⁵⁹. Günümüzde en çok kabul gören skarlama sistemlerindendir. Bu sistemde pankreatite bağlı gelişen organ yetmezliği ve komplikasyonlar değerlendirilerek pankreatit şiddeti belirlenmektedir (tablo 2.3).

Tablo 2.3: Akut pankreatitte Modifiye Atlanta Klasifikasyonu

Hafif Akut Pankreatit	Organ yetmezliği yok
	Lokal veya sistemik komplikasyon yok
Orta Şiddette Akut Pankreatit	48 saatten uzun sürmeyen organ yetmezliği ve/veya
	Kalıcı organ yetmezliği olmadan lokal veya sistemik komplikasyonlar
Şiddetli Akut Pankreatit	Bir veya birden çok organın >48 saat organ yetmezliği

Görüntüleme yöntemlerine dayalı olarak pankreatit şiddetini değerlendiren skorlama sistemi Balthazar sınıflaması, abdomen BT görüntülemesinde inflamasyon, nekroz ve batin içi asiti değerlendiren bir skorlama sistemidir ⁶⁰. Bu skorlama sisteminde pankreasta nekroz gözlenmesi ile >%30 mortalite ve morbidite arasında ilişki bulunmaktadır.

Akut pankreatit şiddetini belirlemede bu skorlama sistemleri yanında bazı laboratuvar belirteçler de kullanılabilir. Hemokonsantrasyon, C-reaktif protein (CRP), BUN, serum kreatinin, üriner tripsinajen aktivatör peptit, prokalsitonin, polimorfonükleer elastaz, pankreas ilişkili protein, serum amilaz, lipaz, kalsiyum, prokarboksipeptidaz-B, prokarboksipeptidaz-B aktivatör peptit, serum tripsinojen 2, fosfolipaz A2, serum amiloid protein-A, substans-P, antitrombin 3, platelet aktivatör faktör, IL-1, IL-6 ve IL-8, TNF- α , çözünebilir TNF reseptör, anjiopoetin 2 gibi birçok labotuar belirteci de ayrı ayrı kullanılabilmesine rağmen birçoğunu rutin olarak yapılamaması ve yalnız başlarına prediktif değerlerinin istenilen düzeyde olmaması gibi sorunlar mevcuttur ⁶¹⁻⁶⁶.

Akut pankreatitin skorlama sistemleri, görüntüleme yöntemleri ve serum belirteçlerini karsılaştıran bir çalışmada yalnızca görüntüleme yöntemlerinin pankreatit prognozunu belirlemede yetersiz olduğu, diğer belirteçlerle kombine edilmesi gerektiği belirtilmektedir ¹⁰.

2.7. İnflamasyon

İnflamasyon, mikroorganizmalar, travma vb. birçok etiyolojik nedene karşı vücudun savunma mekanizmasının bir parçasıdır. Bu mekanizma başlangıçta spesifik değildir ve hemen gerçekleşir ⁶⁷. Beş temel inflamasyon belirtisi vardır; Isı, kızarıklık, şişme, ağrı ve işlev kaybı. İnflamasyon, yaralanma nedenine yanıt veren sürecin zamanına bağlı olarak üç tipe ayrılabilir; Etiyolojik sebeple karşılaşmadan hemen sonra ortaya çıkan ve birkaç gün süren akut, akut inflamasyonun yerleşmediği ve subakutun başarısız olduğu aylar hatta yıllarca sürebilen kronik inflamasyon; ve akut inflamasyondan kronik inflamasyon gelişene kadarki, 2 ila 6 hafta süren geçiş dönemi olan subakut inflamasyondur ⁶⁸. Akut inflamasyon, sitokinler, akut faz proteinleri ve nötrofil ve makrofajların inflamasyon alanına göçüne neden olan kemokinler gibi çözünür araçların ortaya çıktığı, etyolojik nedenle maruziyet sonrasında başlar ⁶⁹. Bu hücreler, akut inflamasyonda aktif rol alabilen doğuştan gelen doğal immünitinin bir parçasıdır. Akut

inflamasyon altı hafta boyunca iyileşemez ve devam ederse, doku hasarı ve fibrozis ortaya çıkacaktır.

Akut inflamasyon, immün sistemin enfeksiyon ve doku hasarı (doku nekrozu) gibi bazı zararlı uyaranlara cevap olarak geliştirdiği erken yanıttır. Kontrollü inflamatuvar yanıt genellikle yararlıdır ve bu, mikobakteri tüberkülozu, protozoa, mantarlar ve diğer parazitler dahil olmak üzere enfeksiyöz organizmalara karşı koruma sağlamada açıkça görülebilir. Bununla birlikte, septik şokta görüldüğü gibi, inflamatuvar süreç sınırlandırılmazsa zararlı olabilir ⁷⁰. İnflamatuvar yolak, indükleyicileri, sensörleri, aracıları ve efektörleri içeren bir dizi olaydan oluşmaktadır ⁷¹. Bu süreç, enfeksiyöz organizmalar veya yabancı cisimler, nekrotik hücrelerden, hasarlı dokulardan gelen sinyaller gibi enfeksiyöz olmayan indükleyici uyaranlar varlığında başlar. Bu, özelleşmiş moleküller olan enfeksiyonu algılayan sensörleri, doku hasarını algılayan sensörleri, ağrı sensörlerini vb. aktive edecektir. Sensörler daha sonra ağrıyı indükleyebilen, inflamasyonu ve doku onarımını aktive edebilen veya inhibe edebilen endojen kimyasalları uyarmaktadırlar ⁷². İnflamasyonda rol alan oyuncular, birlikte hareket edebilir ve uyaran türüne bağlı olarak, inflamatuvar süreçte birden fazla alternatif yola yol açabilir. İnflamatuvar sürecin amacı, nedeni ne olursa olsun homeostazı düzeltmektir ⁷⁰.

2.7.1 İnflamasyon Yolağı

İnflamatuvar süreç en iyi enfeksiyöz uyaranlara, özellikle bakteriyel enfeksiyonlara yanıt olarak incelenmiştir. Enfeksiyona bağlı inflamasyonda incelenen prensiplerin birçoğunun diğer nedenlere bağlı gelişen inflamasyona uygulanıp uygulanmadığı açık değildir. Bununla birlikte, genel bir inflamatuvar yol önerilmiştir. Bu yol indükleyiciler, sensörler, mediyatörler ve efektörlerden oluşur. İndükleyiciler, enfeksiyöz organizmaların moleküler desenleri olan patojene bağlı moleküler desenler (PAMP) ve konağın hasarlı hücrelerinden salınan moleküller olarak hasarla ilişkili moleküler desenler (DAMP) olarak sınıflandırılabilir. Bu desenlerin her biri makrofajlar ve dendritik hücrelerdeki farklı reseptörler tarafından tanınır; ayrıca ağrı reseptörleri de doku hasarını algılar. İnflamatuvar sitokinler bu reseptörlerin uyarılmasından sonra salınır ^{72, 73}. Bunlar arasında, endotelde değişiklikleri indükleyen ve immün hücrelerinin endotelial hücreler arasındaki bağlantı noktalarından geçişine izin veren TNF- α , IL-1, IL-6 bulunur. Toplanan immün sistem hücreleri dokunun inflamatuvar durumuna bağlıdır: tam olarak olgunlaşmamış inflamasyon monositlerin toplanmasına neden olurken, tam gelişmiş

inflamasyon aynı zamanda nötrofillerin dokuya translokasyonuna da yol açar ⁷². Bu hücreler daha sonra enfeksiyöz organizmalarla savaşıyor ve ölü hücreleri temizleyen enzimleri salgılar. Bu enzim salınımının bir sonucu olarak, dokularda reaktif oksijen radikalleri (ROR) birikecektir. Bunların sağlıklı hücrelere zarar verdiği bilinmektedir ⁷⁰. Endotel hücreleri ayrıca inflamatuvar hücreleri daha fazla çeken pro-inflamatuvar sitokinler salgılar. Plazma dokulara geçer ve doku ödemeine yol açar. Antikoagülan protein sentezi azaltılırken, dolaşımdaki trombositler de aktive edilir ve kümeleşir. Bu, aşırı derecede organ fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunabilen intravasküler tromboza yol açabilir ⁷¹. ⁷⁴. Bu olayların toplamı, iyileştirmek için biraz zarar vermek zorunda kalabildiğini göstermektedir. Gerçekten de işlev bozukluğu, kökenlerine bakılmaksızın tüm inflamatuvar olaylara eşlik eden tek inflamasyon belirtisidir ⁷². Örneğin, lokal inflamasyon nedeniyle oluşan doku ödemi, dokulardaki hipoksiyi artırabilir, bu da kendi başına inflamasyonu artırır ⁷⁵.

2.7.2 İnflamatuvar Yanıt Hücreleri

İnflamasyonun akut fazında, trombositler ve bazofiller, mast hücreleri, nötrofiller ve eozinofiller gibi granülositik hücreler aktive edilir ve sonuç olarak inflamatuvar yanıtı uyaran ve düzenleyen bir dizi çözünür aracı üretir. Çekirdeklerinin loblu doğası nedeniyle bazen polimorfonükleer nötrofiller olarak adlandırılan nötrofiller, akut inflamatuvar yanıtın birincil hücresel araçlarıdır. Granülleri çeşitli enzimler, peptitler ve proteinler içerir, ayrıca ROR'i solunumsal patlama ile hızla serbest bırakabilir. Bunlar fagositozu takiben organizmaları ve yabancı maddeleri yok etmeye ve sindirmeye yarar, ancak ayrıca serbest bırakılabilir ve inflamatuvar bölgedeki konakçı dokulara zarar verebilir ⁷⁶. Nötrofiller, bazofil veya mast hücresi degranülasyonu, kompleman aktivasyonu veya prostaglandinlerin ve lökotrienlerin salınması sonucu meydana gelen vazodilatasyon ile kandan yaralanma bölgesine göç eder, bu da dolaşan nötrofillerin artması olarak da yansıtılabilir. Bazofiller ve mast hücreleri, inflamatuvar yanıtın birçok yönünde işlev gören çözünür araçlar için rezervuar görevi gören sitoplazmik granüller içerir. Araşidonik asit metabolizması (prostaglandinler ve lökotrienler) ve histamin gibi mast hücrelerinden salınan erken faz reaktanları, akut vasküler yanıtın karakteristik özelliği olan vazodilatasyonuna ve artmış vasküler geçirgenliğe aracılık eder. Mast hücreleri tarafından trombosit aktive edici faktörün (PAF) salgılanması ayrıca vasküler geçirgenliği artırır ve

aynı zamanda inflamatuvar aracılardan trombositlerden salınmasını uyarır ve nötrofillerin aktivasyonuna neden olur ⁶⁹.

Eozinofiller, aşırı duyarlılık reaksiyonları ve parazitik enfeksiyonların temizlenmesi ile ilişkili baskın inflamatuvar hücrelerdir. Eozinofiller, IL-5, IL-2, IL-16, histamin, nötrofil peptitleri ve bazı komplemanlar dahil olmak üzere bir dizi faktör tarafından inflamasyon bölgesine alınır. Eozinofillerin aktivasyonu, eozinofil peroksidaz, majör bazik protein (MBP), eozinofil türevi nörotoksin ve eozinofil katyonik proteinlerin (EKP) salımı ile sonuçlanır. Astım ve rinit gibi bazı alerjik durumlarda, dolaşımdaki eozinofil sayısı hastalık şiddeti ile pozitif korelasyon gösterebilir ⁷⁷. Eozinofili, helmantik parazitler ile enfeksiyon sırasında da gelişebilir. Trombositler, megakaryositlerden türetilen membrana bağlı sitoplazmadan oluşan nükleusu olmayan hücre fragmanlarıdır. Hızla, yaralanma ve enfeksiyon bölgelerine toplanırlar ve lokal olarak aktive edilirler. Trombositlerin birincil işlevi pıhtı oluşumunu kolaylaştırmak ve hasarlı kan damarlarından sızıntıyı önlemektir. Trombositler, vasküler hasar bölgelerinde fibrinojen ve vitronektin gibi pıhtılaşma sisteminin proteinleri ile birlikte çalışır. Doku hasarı ve/veya inflamatuvar sürecin kendisi, yaygın intravasküler pıhtılaşmayı (DIC) tetikleyebilir, bu da organizma boyunca trombüs oluşumu nedeniyle trombositlerin tükenmesine neden olur. DIC, azalmış trombosit sayısı ve artmış ortalama trombosit volümü ile karakterizedir ⁷⁸.

Lenfositik infiltrasyon genellikle kronik inflamasyonda öne çıkan bir özelliktir. T ve B lenfositleri, sitotoksisitenin spesifik efektörleri olarak işlev görebilir veya doku hasarına veya inflamatuvar hücre alımına katılan antikörleri veya sitokinleri salgılar. Lenfosit antijen reseptörlerinden yoksun doğal lenfoid hücreler, enfeksiyonla mücadele eden ve spesifik olmayan bir şekilde inflamatuvar hastalığa katkıda bulunan sitokinleri de salgılar ⁷⁹. Hem sistemik hem de lokal lenfosit cevapları dolaşımdaki toplam lenfosit veya subgruplarının sayısı üzerinde bir etkisi olmayabilir ve benzer şekilde dolaşımdaki lenfositlerin sayısındaki değişiklikler mutlaka immün stimülasyonu veya inflamasyonun göstergesi değildir. Bu tür değişikliklere aracılık eden fizyolojik yanıtlara örnek olarak epinefrine bağlı olarak periferik lenfoid dokuya yönelmenin azalması nedeniyle lenfositoz, kortikosteroidlerin aracılık ettiği stres yanıtlarında meydana gelen sitokin sekresyonundaki, lenfosit yönelmesindeki ve trafiğindeki değişikliklerin sonucu lenfopeni gözlemlenebilir ⁸⁰. Çoğu tür için lenfositoz, inflamatuvar lökogramın tipik bir

bileşeni değildir. Lenfositler, lenf nodlarında veya inflamasyon bölgelerinde daha konsantre olma eğilimindedir. Aslında strese bağlı lenfopeni, inflamasyonun daha tipik bir bileşenidir ⁶⁹.

Makrofajlar, lenfositik infiltrasyondan sonra yaralanma bölgesinde birikme eğilimindedir ve ayrıca mikobakteriyel enfeksiyonlar gibi kronik hastalıklara birincil yanıtta rol oynarlar. Antijen sunan hücreler (APC) olarak hizmet ederler ve ayrıca inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde ve çözülmesinde baskın rol oynayan çeşitli lenfosit uyarıcı pro-inflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri serbest bırakarak immün cevabın düzenlenmesine ve sürdürülmesine yardımcı olurlar. Makrofajlarda bulunan lizozomal enzimler, yabancı maddelerin ve inflamatuvar aracılardan fagositik parçalanmasına katılır ⁶⁹.

Nötrofiller ayrıca monositlerin dokulara göçünü destekleyen kemoatraktan proteinleri de salgırlar. Burada, monositler M1 veya M2 gibi makrofajlara ayrılır. M1 makrofajlar ayrıca ROR üretir ve diğer immün sistem hücrelerini toplar, M2 ise büyüme faktörlerini salgılayarak doku onarımını stimüle ettikleri için daha sonraki bir aşamada rol oynar ^{81, 82}. TNF-a, M1 makrofajları tarafından salınan en önemli inflamatuvar sitokinlerden biridir, çünkü daha sonra tarif edildiği gibi sistemik etkileri indükler ^{70, 83, 84}.

Akciğer ve karaciğer gibi dokulardaki yerleşik makrofajlar, inflamatuvar hücre sayısını arttırmak için çoğalabilir. Ek olarak, monositler kemik iliğinden inflamatuvar bölgelere göç edebilir ve makrofajlar halinde farklılaşmaya devam edebilir. Monositler ve makrofajlar ölü veya anormal hücrelerin temizlenmesinde önemli bir rol oynar ve bu nedenle bu hücrelerin sayısının artması enfeksiyon veya doku nekrozunun göstergesi olabilir. Makrofajlar periferik kanda nadiren bulunur, ancak inflamatuvar bölgelere giden yoldaki monositler, spesifik hücre yüzeyi reseptörlerinin upregülasyonu gibi aktivasyonun bazı özelliklerini gösterebilir. Hem akut hem de kronik inflamasyonda monositoz ortaya çıkabilir ⁶⁹.

2.7.3 Hücre Yüzey Reseptörleri ve Adezyon Molekülleri

Adezyon molekülleri, inflamatuvar yanıt sırasında lökositler ve endotel hücreleri arasındaki etkileşimleri kontrol eder. Bu hücre-hücre etkileşimleri, inflamasyon sırasında hücre yüzeyi ligandlarının upregülasyonu ile uyarılan olayların karmaşık bir kademesinin sonucudur. İnflamatuvar hücreler yaralanma bölgesine ulaştığında, endotel, diğer

parankimal hücreler, immün hücreler ile hücre dışı matris proteinleri daha fazla etkileşir, bu da yanıtın sonlandırılmasına veya kronikleşmesine yardım eder. Adezyon molekül aileleri, selektinler, integrinler, vasküler adesinler ve lenfosit yönelme reseptörleri dahil olmak üzere bu olaylar dizisine katılır ⁸⁵⁻⁸⁷.

2.7.4 İnflamatuvar Yanıtın Çözünür Aracıları

2.7.4.1 Sitokinler

Sitokinler, immün ve inflamatuvar yanıtların artırılması ve düzenlenmesinde yer alan farklı hücre tipleri arasındaki etkileşimi sağlayan ve bunların kontrolünü koordine etmek için moleküler haberciler görevi görür. Tek bir sitokin birkaç farklı hücre tipini veya hedefi etkileyebilir ve hedefe bağlı olarak hem otokrin hem de parakrin sinyalleşme etkilerine sahip olabilir ⁸⁸. Doğuştan gelen bağışıklık tepkileri sırasında, sitokinler öncelikle fagositik hücreler ve doğal öldürücü hücreler (NK) tarafından salgılanır, ancak adaptif bağışıklık tepkilerinde esas olarak APC'ler ve lenfositler tarafından üretilirler. Sıklıkla ayrı ayrı tanımlansa da, doğuştan gelen ve uyarlanabilir bağışıklık sistemleri arasındaki çapraz iletişim siktir ve sitokinler bağışıklık sisteminin çeşitli kolları arasında önemli bir iletişim aracıdır ⁸⁹. Etkili bir immün yanıtın üretimi ile doku hasarı arasındaki denge, sitokin ağının dikkatli bir şekilde düzenlenmesine bağlıdır. Sitokinlerin kısa yarılanma ömrü, normal koşullar altında bu çözünür araçların çoğunun hızla ortadan kaldırıldığını ve böylece sınırlı biyoaktivitelerinin temin edildiğini gösterir. Bununla birlikte, akut ve/veya kronik inflamatuvar koşullar sırasında sitokinler, sistemik etkilerin gözlenmesi için yeterli miktarda salınabilir ⁹⁰.

Birçok sitokin ve kemokin, yaralanma bölgesine lökosit kemotaksisinin kolaylaştırılması, immün hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi ve immün yanıtta yer alan çeşitli hücre tiplerinin çoğalmasının ve farklılaşmasının uyarılması dahil olmak üzere birçok mekanizma yoluyla inflamasyona katkıda bulunur (Tablo 2-4). İnflamatuvar yanıtları uyarmak ve sürdürmek için en iyi bilinen sitokinler, IL-6, IL-1, IL-2, TNF- α , IFN- γ , ve transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β 'dir ^{88, 91}.

IL-6, bunlarla sınırlı olmamak üzere mononükleer fagositler, T hücreleri, B hücreleri ve fibroblastlar dahil çeşitli hücreler tarafından eksprese edilebilir. İmmün sisteme ait olmayan hücreler de IL-6 salgılayabilir; örneğin, hepatositlerin, inflamatuvar uyarılara akut faz yanıtının bir parçası olarak IL-6 salgıladığı gösterilmiştir. IL-6'nın başlangıçta B lenfositlerin antikor üreten hücrelere olgunlaşmasında kritik bir rol

oynadığı düşünülmüştür. Bu sitokin seviyelerinin artması poliklonal B hücresi aktivasyonu ve kronik inflamasyon ile ilişkili olduğu için bir B lenfosit farklılaşma faktörü olarak tanımlanmıştır. IL-6 ayrıca T hücrelerinin aktivasyonunda ve farklılaşmasında, Th2 ve Treg fenotiplerinin düzenlenmesinde yardımcı olur. IL-6, akut faz inflamatuvar yanıtın ilk aşamalarına aracılık eder ve IL-6 seviyeleri, kronik inflamatuvar koşullarda yüksek kalmaya devam eder, bu da inflamasyonu devam ettiren lenfositlerin ve makrofajların hayatta kalmasına ve sayılarının artmasına yol açar ^{88, 91, 92}.

IL-1 sitokin ailesi, daha fazla sitokin üretiminin uyarılması, prostaglandinlerin salınması, kemik iliğinde inflamatuvar hücrelerin üretimi, sitotoksik efektör hücrelerin üretilmesi ve koloni uyarıcı faktörlerle sinerjileştirilmesi gibi görevleri olan, hem doğrudan hem de dolaylı pro-inflamatuvar etkilere sahip 11 farklı üye içerir. IL-1 ailesi, monositler ve makrofajlar dahil olmak üzere çeşitli hücre tipleri tarafından salgılanabilir ve eksprese edilebilir. IL-1 β , IL-1 ailesinin daha belirgin pro-inflamatuvar üyelerinden biridir ve çok sayıda inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. IL-1 β , bazı inflamatuvar aracılardan (örn., Prostaglandin E2, PAF, nitrik oksit) üretiminde işlev gören indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz tip 2'nin gen ekspresyonunu ve salgılanmasını düzenler. IL-1 β ayrıca inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağlayan adezyon moleküllerinin ekspresyonunu indükler ^{88, 93}. IL-2, NK hücre aktivitesini artırır, IL-1 ve IFN- γ gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini uyarır ve makrofaj sitotoksitesini artırır. Ayrıca antijene özgü T ve B lenfositlerinin aktivasyonunu ve proliferasyonunu uyararak kronik inflamasyona katkıda bulunur. TNF- α , esas olarak doğuştan gelen immün yanıtta katılır ve sitokin üretimini teşvik ederek, hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu indükler ve hücre büyümesini ve proliferasyonunu uyararak inflamasyonu artırır. TNF- α 'nın, Sınıf I ve II majör histokompatibilite kompleksi (MHC) moleküllerinin ekspresyonunu belirli hücre tiplerinde arttırdığı gösterilmiştir, bu da hücre aktivasyonu ve sitokin salımı ile sonuçlanır. Apoptozun desteklenmesi yoluyla ölü ve ölmekte olan hücrelerin temizlenmesi sürecinde de önemlidir ^{88, 91}. IFN- γ , makrofajların güçlü bir aktivatörüdür, IL-1 ve TNF- α gibi diğer pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini uyarır ve ayrıca Sınıf II MHC moleküllerinin immün hücreler ve vasküler endotelyum üzerindeki ekspresyonunu artırır. İkincisi, inflamatuvar hücrelerin damarlardan dokulara veya bir yaralanma bölgesine taşınması için gerekli olduğundan özellikle önemlidir. TGF- β yaralanma sonrası doku onarımı ve rejenerasyonunun düzenlenmesinde önemlidir. IL-2, IFN- γ ve TNF- α gibi proinflamatuvar

sitokinlerin üretimini inhibe ederek bir dizi immün ve immün olmayan hücre tipi tarafından üretilir ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesine yardımcı olur. TGF- β doku hasarını takiben trombositler tarafından salınır ve inflamatuvar hücreleri ortama çekerek, anjiyogenezi indükler ve hücre dışı matrisi oluşturan proteinlerin birikmesini artırarak yara iyileşmesinde önemli bir rol oynar⁹¹. Belirli bir inflamatuvar durumdaki herhangi bir bireysel çözünür mediyatörün göreceli önemi, sitokinlerin kaskadlarda ve ağlarla ilişkili olmasından ve hedef hücrelerin çoklu sitokinlerden etkilenebildiğinden değişmektedir. Bu moleküller akut faz proteinlerinin ve diğer inflamatuvar araçların üretimini düzenlerken, bunlar NF- κ B gibi transkripsiyon faktörleri, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) ailesi ile düzenlenebilir^{88, 94, 95}. “İnflamasyonda ana transkripsiyonel anahtar” olarak adlandırılan NF- κ B, inflamasyon ve diğer biyokimyasal süreçlerde yer alan düzenlerce hedefi düzenler ve Nukleer faktor kappa B (NF- κ B) ekspresyonundaki değişiklikler de inflamasyonun bir biyobelirteci olarak kullanılmıştır⁹⁶. STAT1, STAT3 ve STAT 6 dahil STAT ailesinin üyeleri, T hücresi farklılaşmasının düzenlenmesine ve Th1, Th2 ve Th17 aracılı inflamatuvar yanıtların aktivasyonuna katılmaktadır⁹⁷. İnflamasyonda rol oynayan ana sitokinlerin kaynakları ve fonksiyonları tablo 2.4’de verilmiştir.

2.7.4.2 Kemokinler

Kemokinler, kemotaktik sitokinler olarak işlevleriyle değil, amino asit bileşimlerine, özellikle tetra-sistein motifinin varlığına dayanarak tanımlanır. İlk iki sisteininin göreceli pozisyonu, kemokinlerin sırasıyla iki ana alt sınıfa, CXC ve CC kemokinlere bölünmesinin temelini oluşturur^{98, 99}. Genel olarak, CC kemokinler, monositler (CCL5, monosit kemoatraktan proteinler (MCP 1-5)), eozinofiller (eotaksinler 1-3), bazofiller (MCP 4-5) ve lenfositler (makrofaj inflamatuvar protein (MIP) -1 α and β) için kemoatraktan görevi görürler. IL-8, trombosit faktörü 4 ve büyüme düzenleyici onkogen α ve β ’yı içeren CXC ailesinin üyeleri polimorfonükleer lökositleri ortama çeker, anjiyogenezi ve yara iyileşmesini modüle eder. Birkaç homolog molekül ayrıca kemokin olarak kabul edilir. Bunlar, ilk iki sistein arasında araya giren üç amino aside sahip CX3C (fraktalkin veya nörotaksin) ve sadece tek bir terminal sisteine sahip C kemokin ailesinden XCL1 ve XCL2 ile karakterize edilir. İnflamatuvar kemokinler, enfeksiyon, inflamasyon, doku hasarı ve tümörlerde efektör lökositlerin toplanmasını kontrol eder. İnflamatuvar sürecin bir parçası olarak, kemokinler hücrelerel göçü yönlendirir,

makrofajları ve polimorfonükleer lökositleri aktive eder, anjiyogenezin teşvik edilmesi ve fibrozun uyarılması yoluyla yara iyileşmesini modüle eder ⁶⁹. Ek olarak, kemokinler, astrositlerin, merkezi sinir sisteminde, akut doku hasarını takiben bir uyarı işareti olarak hizmet eden nosiseptif ağrı sinyallerinin iletimini destekleyen yaralanma bölgelerine göçünü ve mikrogial hücre proliferasyonunu indükler ¹⁰⁰. Hücre göçü veya kemotaksi, genellikle kemokin yağunluğu boyunca meydana gelir ve lökositler ve endotelial hücreler üzerindeki kemokin reseptör seviyelerindeki değişiklikler, lökositlerin inflamasyon bölgelerine yönelmesini düzenler ⁹⁸. Kemokinler, PAF, C5a ve lökotrien B4 gibi diğer kemotaktik moleküller ile ortak reseptörleri paylaşır. Aktifleşmiş efektör veya bellek T hücreleri, çoklu inflamatuvar kemokinlerin kaynağıdır ve bu inflamatuvar kemokinler efektör T hücresi ve makrofaj toplanmasını sürdürerek, lokal inflamatuvar sitokinlerin üretimini kontrol edebilir ¹⁰¹. Bu nedenle, lokal olarak üretilen kemokinler hastalık ilerlemesini ve patogenezi etkileyebilir. Artmış kemokin seviyeleri, hem akut hem de kronik inflamatuvar durumlarla, ateroskleroz ve glomerülonefrit dahil bir dizi kronik inflamatuvar hastalıkla ilişkilendirilmiştir. İnflamasyonda rol oynayan ana kemokinlerin kaynakları ve fonksiyonları tablo 2.5’de verilmiştir.

2.7.4.3 Akut Faz Proteinleri

İnflamasyon tipik olarak akut faz tepkisini tetikler, bu da akut faz proteinleri (AFP) olarak bilinen kan proteinlerinde değişikliklere neden olur. AFP'lerin üretimi öncelikle karaciğerde gerçekleşir ve inflamasyon bölgesinden sitokin sinyallerine yanıt olarak artmış (pozitif AFP'ler) veya azaltılmış (negatif AFP'ler) üretimi ve salımı meydana gelir. Bu proteinler, savunma ve/veya uyarlanabilir süreçleri başlatmak veya desteklemek için homeostazı değiştirerek kısa vadede iyileşmeye katkıda bulunurlar, ancak uzun süreli stimülasyon ile kronik inflamasyon, metabolik bozukluklar ve doku hasarına yol açabilirler. Pozitif AFP'ler arasında CRP, A ve P amiloidleri, seruloplazmin, haptogloblin, alfa 1-asit glikoprotein, alfa 2-makroglobulin, kompleman bileşenleri ve Faktör V ve VIII gibi pıhtılaşma proteinleri ile fibrinojen bulunur. Negatif AFP'ler albümin ve alfa-1 apolipoproteini içerir ¹⁰². Bu proteinler, inflamatuvar sinyallere yanıt olarak düzenlendiği ve koşullar değiştiğinde hızla değiştiğinden, iyi bir inflamatuvar belirteçlerdir. Akut faz proteinlerinin stres yanıtının bir parçası olarak artabileceğine dikkat edilmelidir ⁸⁰, bu nedenle AFP verileri mevcut diğer bilgiler bağlamında yorumlanmalıdır.

Geleneksel olarak, AFP'ler doğrudan plazma veya serumda ölçülür ve klinik olarak, inflamatuvar bir sürecin veya hastalığın varlığını, yoğunluğunu ve seyrini değerlendirmek için kullanılır ¹⁰²⁻¹⁰⁵. İnsanlarda akut faz yanıtı için en hassas ve yaygın olarak tanınan tanı aracı CRP'dir ¹⁰⁵. Hepatik CRP sentezi, IL-6, IL-1 ve TNF- α dahil olmak üzere pro-inflamatuvar sitokinler tarafından düzenlenir. Bu nedenle, hemen hemen her spesifik olmayan doku hasarı, enfeksiyon, inflamasyon veya stres, dolaşımdaki CRP değerlerinin artmasıyla ilişkili olabilir ¹⁰⁶. CRP, hücre molekülü polisakkaritlerine bağlanarak bakteri ve mantar gibi mikroorganizmaları opsonize edebilmesinin yanı sıra, kompleman aktive etme ve sabitleme kabiliyeti ile fagositozu kolaylaştırabilmesi gibi Immünglobulin molekülleri ile çeşitli fonksiyonları paylaşır. Konvansiyonel CRP immünoanalizlerinin, lökosit sayımlarından akut inflamasyon göstergesi olarak daha iyi bir belirteç olduğu gösterilmiştir, çünkü CRP'nin kan seviyeleri hastalık sürecinde daha hızla yükselir ve düşer ⁶⁹. Her ne kadar biraz tartışmalı olsa da CRP'nin insanlarda kardiyovasküler hastalık riski, hipertansiyon ve diyabet için iyi bir belirleyici olduğu gösterilmiştir ¹⁰⁷⁻¹¹⁰.

Tablo 2-4: İnflamasyonda rol alan önemli sitokinler

Mediyatör	Kaynak	Fonksiyon
İnterlökin 1 (IL-1)	Makrofajlar, dendritik hücreler, T ve B hücreleri	T ve B lenfositlerini aktive eder, Diğer sitokinlerin ve akut faz proteinlerinin üretimini artırır, Adezyon moleküllerini indükler.
İnterlökin 2 (IL-2)	Aktive T hücreleri, B hücreleri	T ve B hücrelerinin büyümesi ve aktivasyonu, NK hücreleri ve makrofajların büyümesi ve aktivasyonu, Pro-enflamatuar sitokinlerin üretimini indükler.
İnterlökin 6 (IL-6)	Makrofajlar, dendritik hücreler, B hücreleri, aktive T hücreleri	T hücreleri üzerinde çoklu etkiler, Miyeloid hücre gelişimi, Akut faz proteinlerinin düzenlenmesi.
İnterlökin 10 (IL-10)	Monositler, Tve B hücreler	Anriinflamatuvar Proinflamatuvar sitokinlerin inhibisyonu
İnterlökin 12 (IL-12)	Makrofajlar, dendritik hücreler, B hücreleri	T hücre diferansiyasyonu, T ve NK hücre aktivasyonu,
İnterlökin 17 (IL-17)	Yardımcı T (Th) 17 hücreleri, NK hücreleri, NK T hücreleri, makrofajlar	Monositler ve nötrofiller toplar, Diğer birçok sitokin, kemokin ve prostaglandin üretimini indükler, Alerjik inflamatuvar yanıtları artırır.
İnterlökin 18 (IL-18)	Makrofajlar, dendritik hücreler	Diğer sitokinlerin ve akut faz proteinlerinin üretimini artırır, T hücre diferansiyasyonu
İnterlökin 23 (IL-23)	Makrofajlar, dendritik hücreler	Th17 üretimi ve diferansiyasyonu Diğer sitokinlerin ve akut faz proteinlerinin üretimini artırır,
İnterlökin 33 (IL-33)	Makrofajlar, mast hücreleri, dendritik hücreler, fibroblastlar, epitel hücreleri	Th hücreler, mast hücreleri, eozinofiller ve bazofillerden Th2 ile ilişkili sitokinlerin üretimini uyarır.
İnterferon gama (IFN- γ)	T hücreleri, NK hücreleri, epitel hücreleri, fibroblastlar	MHC ifadesini artırır, CTL, NK ve makrofaj aktivitesini artırır, IL-1 ve TNFa üretimini uyarır.
Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β)	Makrofajlar, megakaryositler, kondrositler	Sitokin üretimini ve aktivitesini engeller, B hücresi çoğalmasını engeller, Yara iyileşmesini uyarır.
Tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- α)	Makrofajlar, dendritik hücreler, lenfositler, mast hücreleri	MHC ifadesini artırır, Makrofajları etkinleştirir, Tümör hücre ölümünü artırır.

Tablo 2-5: İnflamasyonda rol alan önemli kemokinler

Mediyatör	Kaynak	Fonksiyon
Makrofaj Kemoatraktan protein 1 (MCP-1) (CC ailesi)	Endotel hücreleri, epitel hücreleri, fibroblastlar, monositler	Monositleri çeker, Makrofajları ve T hücrelerini aktive eder, Histamin salınımını uyarır.
RANTES (CC ailesi)	T hücreleri, endotel hücreleri, trombositler	Makrofajları çeker.
Gro (α , β , γ MSGA) (CXC ailesi)	Makrofajlar, fibroblastlar	Polimorfonükleer lökositleri çeker, Anjiogenezis yapar.
İnterlökin 8 (IL-8) (CXC ailesi)	Makrofajlar, lenfositler	Kemik iliğinden polimorfonükleer lökositleri mobilize eder.
Fractalkine (CX3C ailesi)	Endotel hücreleri, mikrogliya, makrofajlar	Beyindeki T hücrelerini, monositleri ve polimorfonükleer lökositleri çeker

2.7.5 Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu

İnflamatuvar yanıt uyararı, inflamatuvar süreç tarafından başarılı bir şekilde temizlenmezse veya devam ederse, kronik inflamasyon meydana gelebilir veya sistemik bir sürece dönüşerek, başlangıçta etkilenen organın ötesine geçerek, sistemik bir inflamatuvar yanıt sendromunu (SIRS) indükleyebilir ^{71, 72}. Klinik olarak SIRS, dört kriterden ikisinin varlığına dayanır: ateş ($> 38,0^{\circ} \text{C}$) veya hipotermi ($< 36,0^{\circ} \text{C}$), taşikardi (> 90 atım / dk), taşipne (> 20 nefes / dakika), lökositoz ($> 12 \times 10^9 / \text{L}$) veya lökopeni ($< 4 \times 10^9 / \text{L}$) ¹¹¹. Lokal inflamasyondan SIRS'na geçiş hakkında bilinen şey, inflamasyon uyarısına bağlı olduğudur. En çok çalışılan SIRS vakaları pankreatitler ve sepsise ilerleyen enfeksiyonlardır ^{112, 113}. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu tek başına acil servise başvuran hastalarda artan mortalite ile ilişkilidir ve bu enfeksiyonun, hastalığın şiddetinin ve organ yetmezliğinin prediktif bir göstergesidir ¹¹⁴. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun ilerlemesi çoklu organ disfonksiyon sendromuna (MODS) yol açar ¹¹³.

2.7.6 Çoklu Organ Disfonksiyon Sendromu

Sistemik inflamatuvar yanıt sendromundan MODS'a geçiş de açıkça aydınlatılmamıştır. Çoklu organ disfonksiyon sendromu, akut hastadaki iki veya daha fazla organ sisteminin yetmezliği olarak tanımlanır. Bu, dolaşımdaki sitokinlerin dokulara geçişinin neden olduğu artmış vasküler geçirgenlikten kaynaklanabilir. Yine bu süreçte iskemi-reperfüzyon hasarı ve ROR da katkıda bulunabilir ^{71, 115}. Sitokinlerin endotel ve trombosit aktivasyonuna neden olması sonucunda yaygın damar içi pıhtılaşmaya yol açan mikrovasküler tromboz da etyolojide suçlanmaktadır ⁷⁴.

Solunum sistemi genellikle MODS'da ilk çöken sistemdir; burada kapiller sızıntılar, hücreler ve İnflamatuvar proteinlerin interstisyel boşluğa hareket etmesine ve sonuç olarak alveolleri doldurmasına neden olur. Tip II alveoler hücreler tarafından sürfaktan üretimi azalır ve sonunda alveollerin çökmesine yol açar. Bu akciğer şantını artırır. Akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) gelişme ihtimali yüksektir ⁷¹. Sitokinlere bağlı vazodilatasyon, sistemik vasküler direncin azalması ile hipotansiyona yol açar ve sıvının interstisyel boşluğa çıkmasıyla birlikte, kalbe geri dönen kan azalır, taşikardi ve sistolik hacmi artırmak için geçici olarak miyokardiyal kontraktilitede bir artışa neden olur. Sonra miyokardiyal depresyon ortaya çıkar ve santral venöz basınçta artışı kalp yetmezliği takip eder ⁷¹. Merkezi sinir sistemi disfonksiyonu genellikle ihmal edilen erken bir olaydır. Kendini konfüzyon, ajitasyon, uyuşukluk veya koma olarak gösterebilir. Aynı zamanda MODS'daki en uzun süren işlev bozukluklarından biridir. Karaciğer sistemi disfonksiyonu, şok karaciğerine bağlı transaminaz yükselmesi, pıhtılaşma anormallikleri ve hiperbilirubinemiye içerir. Akut karaciğer yetmezliği ortaya çıkabilir ⁷¹. Gastrointestinal motilite genellikle azalır, ileus ve abdominal distansiyona neden olur. Ayrıca, diğer organları perfüze etmek için oluşan şantlar nedeniyle bağırsaklar iskemiye de yatkındır. Bağırsak lümeni çok sayıda bakteri popülasyonuna sahip olduğundan, mukozal iskemiye takiben bağırsak bariyerinin bozulması bakteri translokasyonuna neden olur ve sistemik inflamasyonu daha da artırır. Perfüzyonda azalma ve inflamatuvar mediyatörler MODS'da akut böbrek hasarının bildirilen nedenleridir ⁷¹. Bununla birlikte, sepsis durumlarda, renal kan akışı korunmasına rağmen, inflamatuvar sitokinler adezyon moleküllerinin ekspresyonunun artmasına ve kapiller staza katkıda bulunan artmış lökosit göçüne neden olduğu için ana perfüzyon sorunları mikrovasküler düzeyde ortaya çıkar ^{116, 117}. Akut böbrek hasarı, MODS'da mortalite ile

en fazla ilişkilendirilen faktördür. Çok faktörlü etiyojisi olan trombositopeni ve kemik iliği supresyonuna bağlı anemi MODS'da en sık görülen hematolojik yan etkilerdir ⁷¹.

2.8. Akan Hücre Ölçer

Andrew Moldavan tarafından 1934'de tanımlanan aracın genellikle erken bir prototip olduğu kabul edilmektedir ¹¹⁸. Üretimi yapılmamış olsa da, tasarımda mikroskop gibi görünüyordu, kılcal bir tüpde hücreler, objektif yoluyla yayılan ışığın önünde tek sıra halinde akarken ayrı ayrı aydınlatılabildi. Hücrelerden gelen sinyaller daha sonra mikroskop merceği pozisyonuna bağlı bir fotodetektör ile analiz edilebilecekti. Sonraki yıllarda Coulter ve arkadaşları tarafından süspansiyondaki parçacıkları saymak için araç geliştirme ¹¹⁹⁻¹²² çalışmalarının ardından, Kametsky ve Melamed tarafından 1965 ve 1967 ^{123, 124} bir servikal örnekteki anormal hücreleri ayırt eden ışık sinyallerinin saptanması için mikroskop bazlı bir akan hücre ölçer üretmek üzere bir tasarım uygulandı. Kametsky makalelerinin yayınlanmasından sonraki yıllarda, Fulwyler, Dittrich ve Göhde, Van Dilla ve Herzenberg ¹²⁵⁻¹²⁷ tarafından yapılan çalışmalar, genel tasarımda önemli değişikliklere yol açarak, bugünün akan hücre ölçerlerine büyük ölçüde benzer bir sitometreye sonuçlandı. Bugünün akan hücre ölçerleri gibi, 1969'daki bir akan hücre ölçer de mikroskop gibi görünmüyordu, ama yine de Moldavan'ın prototipine ve Kametsky enstrümanına dayanıyordu; hücrelerden gelen sinyalleri tespit etmek için fotodetektörler kullandılar. Bugün bile bir akan hücre ölçer tanımımız, bir ışık kaynağının önünde ayrı ayrı akarken hücreleri aydınlatan ve daha sonra aydınlanmadan yansıyan sinyalleri tespit edip ilişkilendiren bir enstrümanı içerir.

Akan hücre ölçer, tek bir hücreyi veya partikülü, tamponlu tuz bazlı bir çözelti içinde süspanse edilirken tekli veya çoklu lazerlerin önünde geçtikçe hızla analiz eden bir teknolojidir. Her parçacık, görünür ışık saçılımı ve bir veya daha fazla floresans parametresi açısından analiz edilir. Görünür ışık saçılımı, hücrenin görelî boyutunu gösterebilen ileri yön (İleri Saçılma veya FSC) ve hücrenin iç karmaşıklığını veya tanecikliğini gösteren 90°'de (Yan Saçılma veya SSC) iki farklı yönde ölçülür. Işık yayılımı floresandan bağımsızdır. Örnekler, floresan boyalarla (örn., Propidium İyodür, DNA) boyama veya floresan konjuge antikörlerle (örn. CD3 FITC) boyama ile hazırlanmış proteinlerin transfeksiyonu ve ekspresyonu yoluyla floresan ölçümü için hazırlanır ^{14, 128}.

Akan hücre ölçer, immünoloji, viroloji, moleküler biyoloji, kanser biyolojisi ve bulaşıcı hastalık izleme gibi birçok disiplinlerde uygulamaları olan güçlü bir araçtır. Örneğin, immün sisteminin incelenmesi ve bulaşıcı hastalıklara ve kansere yanıtı için çok etkilidir. Kan ve kemik iliğindeki karışık hücre popülasyonlarının yanı sıra lenf nodları, dalak, mukozal dokular, katı tümörler gibi tekli hücrelere ayrılabilen katı dokuların eşzamanlı olarak karakterize edilmesine izin verir. Hücre popülasyonlarının analizine ek olarak, önemli bir uygulama ise, hücreleri daha fazla analiz için ayırabilmesidir ¹⁴.

Akan hücre ölçer için kullanılan sistemler son birkaç on yılda daha da gelişmiştir. Boncuk analizi için tasarlanmış 96-kuyu yükleyicili sistemler, mikroskopi ve akan hücre ölçeri birleştiren sistemler ve kütle spektrometrisi ile akan hücre ölçeri birleştiren sistemler, çok lazerli sistemler gibi özel amaçlar için tasarlanmış aletler yaygındır. Son birkaç yıl içinde mevcut reaktiflerdeki artış, akan hücre ölçer deneylerinde kullanılan parametre sayısında bir büyümeye yol açmıştır. Tandem boyalar ve polimer boyalar gibi monoklonal antikoları konjuge etmek için kullanılan florokromlarda çarpıcı bir artış olmuştur. Ek olarak, yeşil floresan proteinin (GFP) ötesinde transfeksiyon için kullanılan mCherry, mBanana, mOrange, mNeptune, vb. gibi mevcut floresan proteinlerinde bir artış olmuştur. Florokromlardaki ve enstrümantasyondaki bu ilerlemeler, 30'dan fazla parametre olasılığı olan deneylere olanak sağlamaktadır ^{14, 128}.

Bir akan hücre ölçer deneyiminin son kısmı veri analizidir. Geleneksel iki parametrelili histogram (nokta grafiği) kaplaması ve analizi hala sıkça kullanılmaktadır. Bununla birlikte, deneylerdeki parametre sayısındaki ve karmaşıklıkta artışı, temel bileşen analizi (PCA), yoğunluğa göre normalleştirilmiş olayların yayılma ağacı ilerleme analizi (SPADE) gibi daha yeni küme veri analiz algoritmalarının kullanılmasına yol açmaktadır. Bu geliştirilmiş veri madenciliği yöntemleri, artık akan hücre ölçerden elde edilebilen yüksek boyutlu verilerden faydalı bilgilerin elde edilmesine izin vermektedir ¹⁴.

2.8.1. Akan Hücre Ölçerin Genel Yapısı

Geleneksel akan hücre ölçerler üç sistemden oluşur: akışkanlar, optik ve elektronik. Akışkanlar sistemi, numuneyi, numunenin analiz edildiği lazer kesişme noktasına veya sorgulama noktasına iletmek ve odaklamak için basınçlandırılmış sıvıdan (genellikle tamponlu tuz çözeltisi) oluşur. Optik sistem, numuneyi analiz etmek için

kullanılan görünür ve floresan ışık sinyallerini üreten uyarma optikleri (lazerler) ve toplama optiklerinden (fotomultiplier tüpler ve fotodiyotlar) oluşur. Bir dizi dikroik filtre, floresan ışığı belirli dedektörlere yönlendirir ve bant geçiren filtreler, okunan ışık dalga boylarını belirler, böylece her bir florokrom algılanabilir ve ölçülebilir. Daha spesifik olarak, dikroik filtreler, ışığı dalga boyunda daha kısa veya daha uzun geçiren ve kalan ışığı bir açıyla yansıtan filtrelerdir. Örneğin, 450 dikroik uzun geçişli filtreden 450 nm'den daha uzun dalga boyuna sahip olan ışığa izin verir ve daha kısa ışık dalga boylarını başka bir dedektöre gönderilecek bir açıda yerleştirir. Bant geçiren filtreler, belirli bir ışık dalga boyunda küçük bir pencere algılar. Örneğin, 450/50 bant geçiren bir filtre, dalga boyu 450 nm $\pm$ 25 nm olan floresan ışığı dedektör tarafından okunacak filtreden geçirir. Elektronik sistem, dedektörlerden gelen sinyalleri bir bilgisayar tarafından okunabilen dijital sinyallere dönüştürür ^{14, 129}.

Çoklu lazer sistemleri genellikle 20 parametreye (FSC, SSC ve 18 floresan dedektör) sahip cihazlarda yaygındır. Beş veya daha fazla lazer ve 30-50 parametre ile yeni cihaz platformları sunmaktadır, ancak bunlar daha az yaygındır. Geleneksel akan hücre ölçerlerde kullanılan en yaygın lazerler 488 nm (mavi), 405nm (menekşe), 532nm (yeşil), 552nm (yeşil), 561 nm (yeşil-sarı), 640 nm (kırmızı) ve 355 nm (ultraviyole). Özel uygulamalar için ek lazer dalga boyları mevcuttur. Buna ek olarak, duyarlılığı artırmak amacıyla fotomultiplier tüpleri, floresan tespiti için çığ fotodiyotları ile değiştiren aletler vardır ¹⁴.

2.8.2. Akan Hücre Ölçer Uygulama Alanları

İmmünojenotipleme; akan hücre ölçerlerde en çok kullanılan uygulamadır. Çok sayıda parametre için karışık hücre popülasyonlarını aynı anda analiz etmek için akan hücre ölçerin benzersiz yeteneğini kullanır. En basit haliyle, bir immünojenotipleme deneyi, hücre yüzeyinde antijenlere karşı hedeflenmiş florokrom ile konjüge edilmiş antikorlarla boyanmış hücrelerden oluşur. Bu antijenlerin çoğuna İnsan Lökosit Diferansiyasyon Çalıştayları ("Human Leucocyte Differentiation Workshops") tarafından CD numaraları verilir, böylece spesifik hücresel antijenlere yönelik monoklonal antikorları tanımlamak için ortak bir adlandırma kullanımı sağlanmaktadır. Örneğin, CD3 tüm T hücrelerinde bulunan T hücresi koreseptörünü tanımlamak için kullanılır ¹⁴.

Çoğu immün sistem hücresi, onları bir hücre popülasyonu olarak tanımlayan spesifik CD belirteçlerine sahiptir. Bu hücre belirteçlerine dizin belirteçleri denir ve her

immünofenotipleme deneyinde ek analiz için spesifik hücre popülasyonlarını tanımlamak için kullanılır. Örneğin, T hücre işaretçileri (CD3, CD4, CD8), B hücre belirteçleri (CD19, CD20), monosit belirteçleri (CD14, CD11b) ve NK hücre belirteçleri (CD56, CD161).

Hücre popülasyonlarını tanımlayan dizin belirteçlerine ek olarak, her hücre popülasyonunu karakterize etmek için başka belirteçler de kullanılır. Bu belirteçler, aktivasyon belirteçlerini (CD69, CD25, CD62L), bellek belirteçlerini (CD45RO, CD27), doku hedef belirteçlerini ($\alpha 4 / \beta 7$) ve kemokin reseptör belirteçlerini (CCR7, CCR5, CXCR4, CCR6) içerebilir. Genellikle immünofenotipleme deneyleri ayrıca FoxP3 (Treg hücrelerini tanımlar), sitokinler (IFN- γ , TNF- α , IL-2, Th₁ hücrelerini tanımlar), proliferasyon belirteçleri (Ki67) ve antijene spesifik belirteçleri (MHC) içerir ^{14, 129}.

Antijene spesifik yanıtlar; hücreleri spesifik bir antijenle uyarak ve daha sonra MHC multimerleri yoluyla sitokin üretimi, proliferasyonu, aktivasyonu, belleği veya antijen tanınması araştırılarak ölçülebilir.

Hücre içi sitokin analizi; hücrelerin protein taşıma inhibitörü (Brefeldin A veya Monensin) ile 2-12 saat muamele edilmesiyle gerçekleştirilir, böylece hücreler tarafından üretilen sitokinler hücre içinde birikerek daha iyi tespit edilir.

Proliferasyon Analizi; Hücre proliferasyonu, birkaç farklı test ve belirteç kullanılarak akan hücre ölçe ile ölçülebilir. Bu deneyler, timidin analoglarının (BrdU) kopya DNA'ya dahil edilmesi, kalıtsal kalıcı boyaların jenerasyon takibi ve proliferasyonla ilişkili antijenlerin (Ki67) ekspresyonu gibi proliferasyonla ilgili olayları hedeflemek için farklı yöntemler kullanır.

Apoptoz Analizi; apoptoz veya programlanmış hücre ölümü, immünoloji ve diğer çalışma alanlarında sıklıkla incelenen bir olgudur. İnflamatuvar bir yanıtı (nekroz) tetiklemeden hücreleri çıkararak immün sistemin homeostazını korumak için kullanılır. Apoptozun akan hücre ölçe ile saptanması, apoptoz ile ilişkili olaylar dizisi boyunca birden fazla hedef kullanır. Plazma zarının translokasyonu Annexin V boyama ile, DNA'nın endonükleaz sindirimi TdT dUTP Nick End Labeling (TUNEL) testi ile, kaspazların aktivasyonu antikorlar ve boyalar tarafından, mitokondriyal apoptoz mitokondriyal membran potansiyelini ve kromatin yoğunlaşmasını belirleyen boyalarla hedeflenir.

Floresan Protein Analizi; Floresan proteinleri (GFP, mCherry, YFP, mRuby, vb.) protein ekspresyonu için işaretçiler olarak kullanılır. Tipik olarak hücreler, bir promotor sekans içeren ve bir floresan proteini ile birlikte ilgilenilen bir geni kodlayan bir plazmid ile transfekte edilir. Floresan proteinin ifadesi, ilgilenilen genin ifadesi için bir gösterge olarak kullanılır.

Hücre Döngüsü Analizi; hücre döngüsü analiz deneyleri, DNA'nın doymuş miktarda DNA bağlayıcı boya ile boyanmasını içerir. Çoğu durumda, hücreler, hücreleri geçirgen hale getiren %70 etanol çözeltisi ile fiks edilir ve daha sonra propidium iodide (PI), 7-Aminoactinomycin D (7AAD), 4',6-diamidino-2-phenylindol (DAPI) gibi boyalarla boyanır.

Sinyal iletim için akan hücre ölçe ölçümleri; dinlenme ve fosforile olma sırasında sinyal moleküllerine karşı kullanılan antikörlerle gerçekleştirilir. Bu reaktiflerin ve özel tamponların boyama panellerinde kullanılması, karışık hücre popülasyonlarındaki sinyal yollarının incelenmesine izin verir.

RNA için akan hücre ölçe kullanımı; protein ekspresyonu ile birlikte RNA ekspresyonunu saptamak için akan hücre ölçeğinin sitogenetik floresan in situ hibridizasyon boyama protokolleri ile kombinasyonudur.

Hücre ayırma; daha fazla analiz için hücreleri veya partikülleri ayırmak ve saflaştırmak için hücre sınıflandırma özelliklerine sahip bir akan hücre ölçe ile kullanır. Esasen, floresan haline getirilebilen herhangi bir hücre veya parçacık, bir hücre sıralayıcısı ile ayrılabilir.

Mutlak Hücre Sayımı; herhangi bir immünofenotipleme deneyine mutlak hücre sayımı eklenebilir. Prosedür, numune ile birlikte elde edilen bilinen bir konsantrasyondaki floresan boncukları kullanır.

Kantitatif akan hücre ölçe; bilinen floresans miktarlarında bir boyama eğrisi oluşturmak için boncuk bazlı bir standart kullanır. Hücreler daha sonra aynı cihaz ayarları ile ölçülür ve hücreler üzerindeki floresan miktarını hesaplamak için doğrusal regresyon analizi kullanılır.

Çoklu boncuk dizisi tayinleri; spesifik çözünür proteinlere veya nükleik asitlere karşı antikörlerle kaplanmış boncuk setleridir. Her bir boncuk bilinen bir floresan miktarına ve spesifik bir hedefe sahiptir. Yüz taneye kadar boncuk, ilgilenilen numuneyle

inkübe edilir, bir floresans raportörü ile muamele edilir ve daha sonra 2 farklı florokromu tespit etmek için en az 2 lazerli bir akan hücre ölçer üzerinde okutulur. Hesaplamak için özel yazılımlar kullanılır.

Fagositoz testleri; floresan etiketli biyopartiküller veya bakteriler kullanarak, akan hücre ölçer ile fagositozu tespit etmek mümkündür. Bakteriler, sadece bir fagosomun düşük pH'ına maruz kaldığında floresan olan ve bakterilerin fagositozlandığını gösteren pH duyarlı bir boya ile etiketlenir.

Küçük parçacık analizi ve ayırma; gelişmiş duyarlılığa sahip akan hücre ölçerler kullanarak, eksozomları ve diğer mikron altı partikülleri tespit etmek ve sıralamak mümkündür. Hücresel eksozomların, virüslerin ve diğer subselüler partiküllerin analizi, kanser biyolojisi, kanser tedavisi ve aşı geliştirme dahil olmak üzere birçok alanda yeni uygulamalar yaratır. Bu teknoloji hala geliştirme aşamasındadır, ancak teknikler ve enstrümantasyon, bu uygulamayı yakın gelecekte daha erişilebilir hale getirmek için hızla gelişmektedir ^{14, 128, 129}.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalar

Çalışmaya İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Bakırköy Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 01.07.2019 ile 01.06.2020 tarihleri arasında karın ağrısı ile başvuran ve akut pankreatit tanısı alıp hastanede yatırılarak tedavi gören toplam 126 hastanın 65'i ve 20 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Çalışmaya katılanların ortalama yaşı 51.21 ± 13.92 yıl, kadın/erkek oranı 49/36 dir. Hastaların yatışlarında yaşı, ateşi, tansiyonu, nabız ve solunum sayısı yanında alınan rutin kan tetkikleri (glukoz, üre, kreatinin, sodyum, potasyum, kalsiyum, AST, ALT, Amilaz, Lipaz, direkt ve total bilirubin, tam kan sayımı), kan gazı sonuçları ve görüntüleme yöntemlerine (batın ultrasonografisi, batın tomografisi veya batın manyetik rezonans görüntüleme (MRI) sonuçları değerlendirilmiştir. Hastalar organ yetmezliği durumuna göre modifiye Atlanta kriterleri esas alınarak hafif (grup 1), orta (grup 2) ve şiddetli (grup 3) akut bilier pankreatit olarak üç ana gruba ayrılmıştır. Kontrol hastaları (grup 4) ise bilinen herhangi bir rahatsızlığı olmayan ve safra kesesi taşı olmayan sağlıklı gönüllüler arasından seçilmiştir.

Hastaların çalışmaya alınma kriterleri;

- Safra kesesi taşına bağlı akut pankreatit tanısı alma,
- 18-80 yaş aralığında olma olarak belirlenip,

Çalışmadan dışlama kriterleri ise;

- Safra kesesi taşı olmadan gelişmiş olan pankreatitler,
- Diyabet hastalığı olma,
- Herhangi bir kanser öyküsü olma,
- Gebe olma,
- 18 yaşından küçük ve 80 yaşından büyük olma,
- İmmun yetmezlik öyküsü olma,
- Çalışmaya katılmayı kabul etmeme olarak sıralanmıştır.

Çalışma sırasında önceden pankreatit atağı geçiren beş hasta, çalışma dışında tutulmak istemesini belirtmesi sebebiyle dört hasta, yeni tanı konan diyabeti veya kanseri olan 17 hasta, safra kesesinde taş saptanmadan pankreatit geçiren sekiz hasta Covid-19

gibi enfeksiyöz bir hastalık saptanan 11 hasta, acil servise başvuru öncesinde başka bir merkezde herhangi bir tedavi alan 16 hasta çalışmadan çıkarılmıştır.

Organ yetmezliği tanısı için aşağıdaki kriterlerin varlığı göz önünde bulundurulmuştur:

- (1) dolaşım bozukluğu (sistolik basınç <90 mmHg);
- (2) pulmoner yetmezlik ($\text{PaO}_2 \leq 60$ mmHg);
- (3) böbrek yetmezliği (hidrasyondan sonra serum kreatinin > 2.0 mg / dL);
- (4) gastrointestinal kanama (> 500 mL / 24 saat);
- (5) yaygın intravasküler pıhtılaşma (trombositler ≤ 100.000 / mm³, fibrinojen ≤ 100 mg / dL, fibrin parçalanma ürünleri > 80 mg / mL);
- (6) Ciddi bir metabolik bozukluk (serum kalsiyum ≤ 7.5 mg / dL);
- (7) Aşağıdaki kriterlerden 2 veya daha fazlasının varlığı ile tanımlanan sistemik enflamatuvar yanıt sendromunun varlığı:

- (1) Kalp hızı > 90 atım / dakika;
- (2) Vücut sıcaklığı <36 ° C veya > 38 ° C;
- (3) Lökosit sayısı <4.000 veya > 12.000 / mm³;
- (4) Solunum > 20 / dakika.

Çalışmaya dahil edilme kriterlerini sağlayan hastalardan hastaneye yatışları sırasında 10 ml kan heparinli tüplere ve 10 ml kan jelli biyokimya tüplerine alınmıştır. Heparinli tüpe alınan kandan 24 saat içerisinde akan hücre ölçerde yardımcı T (Th) hücreler, sitotoksik T hücreleri, doğal öldürücü (NK) hücreler, monositler ve PD-1, PDL-1 immün kontrol noktalarını içeren immünfenotipleme gerçekleştirilmiştir. Jelli tüpe alınan kan örnekleri ise 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra serum ayrıştırılarak 2 ml lik godelere alınmıştır. Serumlar -80 C derece dondurucuda gerekli etiketlemeler yapıldıktan sonra akan hücre ölçerde IL-1 β , IFN- α 2, IFN- γ , TNF- α , MCP-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p (p70), IL-17A, IL-18, IL-23 ve IL-33 sitokin ölçümleri yapılması amacıyla saklanmıştır.

3.2. Etik Kurulu Onamı

Çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 22.02.2019 tarih ve 2019/238 dosya numarası ile onaylanmış ve gönüllülerden bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

3.3. Örneklem Büyüklüğü

Toplam dört grup olarak planlanan çalışmaya yapılan güç analizi neticesinde % 5 Hata Payı, % 80 Güç İle Standart Etki Büyüklüğü 0.73 olarak belirlenmiş olup her bir gruba $n = 18$ vaka alınmasının yeterli olduğu belirlenmiştir.

3.4. Malzeme ve Kullanılan Alet listesi

Çalışmada örneklerin hazırlanması ve analizi sırasında kullanılan malzeme ve aletlerin listesi tablo 3.1’de verilmektedir.

Tablo 3-1: Çalışmada kullanılan alet ve malzemelerin listesi

Malzeme veya Aletin İsmi	Marka/Firma	Katolog numarası
Akan Hücre Ölçer	BD FACSLytic	659180
Akan Hücre Ölçer	Beckman Coulter DxFLEx	C47513
CD45, V500-C antikor	BD Company	BD 655873
CD3, APC/Cyanine7 antikor	Biolegend	344818
CD4, PerCP/Cyanine5.5 antikor	Biolegend	357413
CD8, PE/Cyanine7	Biolegend	344711
CD14, APC antikor	BD Company	BD 345787
HLA-DR, V450 antikor	BD Company	BD 561359
CD16, FITC antikor	BD Company	BD 560996
CD56, Percp-Cy5.5 antikor	BD Company	BD 560842
PD-L1 (CD274), PE antikor	BD Company	BD 561787
PD-1 (CD279), FITC antikor	BD Company	BD 561035
-80 C derece dondurucu	Sanyo MDF-192	70305925
1-10 µl Kalibre edilmiş standart pipet uçları	Laborant	ANT-L1010E
10-100 µl Kalibre edilmiş standart pipet uçları	Laborant	ANT-L0200G
100-1000 µl Kalibre edilmiş standart pipet uçları	Laborant	ANT-L1000E
Vorteks Cihazı	SCIOLOGEX MS-S	82120000599999
0,5-10 µl otomatik pipet	DLAB	7030301004
10-100 µl otomatik pipet	DLAB	7030301008
100-1000 µl otomatik pipet	DLAB	7030301014
FACSFlow solüsyon	BD Company	342003
Lysing Solution 10X Concentrate	BD Company	BD 349202
LEGENDplex™ Human Inflammation Panel 1 (13-plex) with Filter Plate	Biolegend	740808

3.5. İmmunfenotipleme İçin Akan Hücre Ölçer Örnek Hazırlama İşlem Basamakları

1. Her bir kontrol ve hastadan alınan 100 μ L kan örnekleri ayrı akan hücre ölçer test tüplerine eklendi.
2. Her bir örnek için 3 test tüpü kullanıldı. Her bir örnek sayısı kadar akan hücre ölçer tüpü hazırlandı.
3. Otofloresans belirlenmesi açısından ilk tüpe herhangi bir antikor koyulmazken ikinci ve üçüncü tüpe üretici firmaların önerdiği dilüsyonlarda tablo 3.2'deki antikorlar koyuldu. Antikorların tam karışabilmesi için nazıkçe birkaç saniye vortekslendi ve tüpler karanlık ortamda 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
4. Akan hücre ölçer için geliştirilen lizis solüsyonunun dilüsyonu için önce 1x lisiz solüsyonu 9x distile su olacak şekilde dilüe edildikten sonra her bir örnekten alınan 100 μ L kan örneği üzerine 2 mL eklendi ve elde edilen karışım karanlıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj yapılmasının ardından süpernatant atılarak 2 ml PBS ile dilue edildi.

Tablo 3-2: Hasta ve kontrol kanlarının immünofenotiplendirmesi için kullanılan yüzey işareti ve florokromlar

1. Tüp	2. Tüp	3. Tüp
Antikor yok	Yüzey işareti	Florokrom
	CD45	V500-C
	CD3	APC/Cyanine7
	CD4	PerCP/Cyanine5.5
	CD8	PE/Cyanine7
	PD1 (CD279)	FITC
		PDL1 (CD274)
		CD16
		CD56
		PE
		FITC
		PerCP-Cy5.5

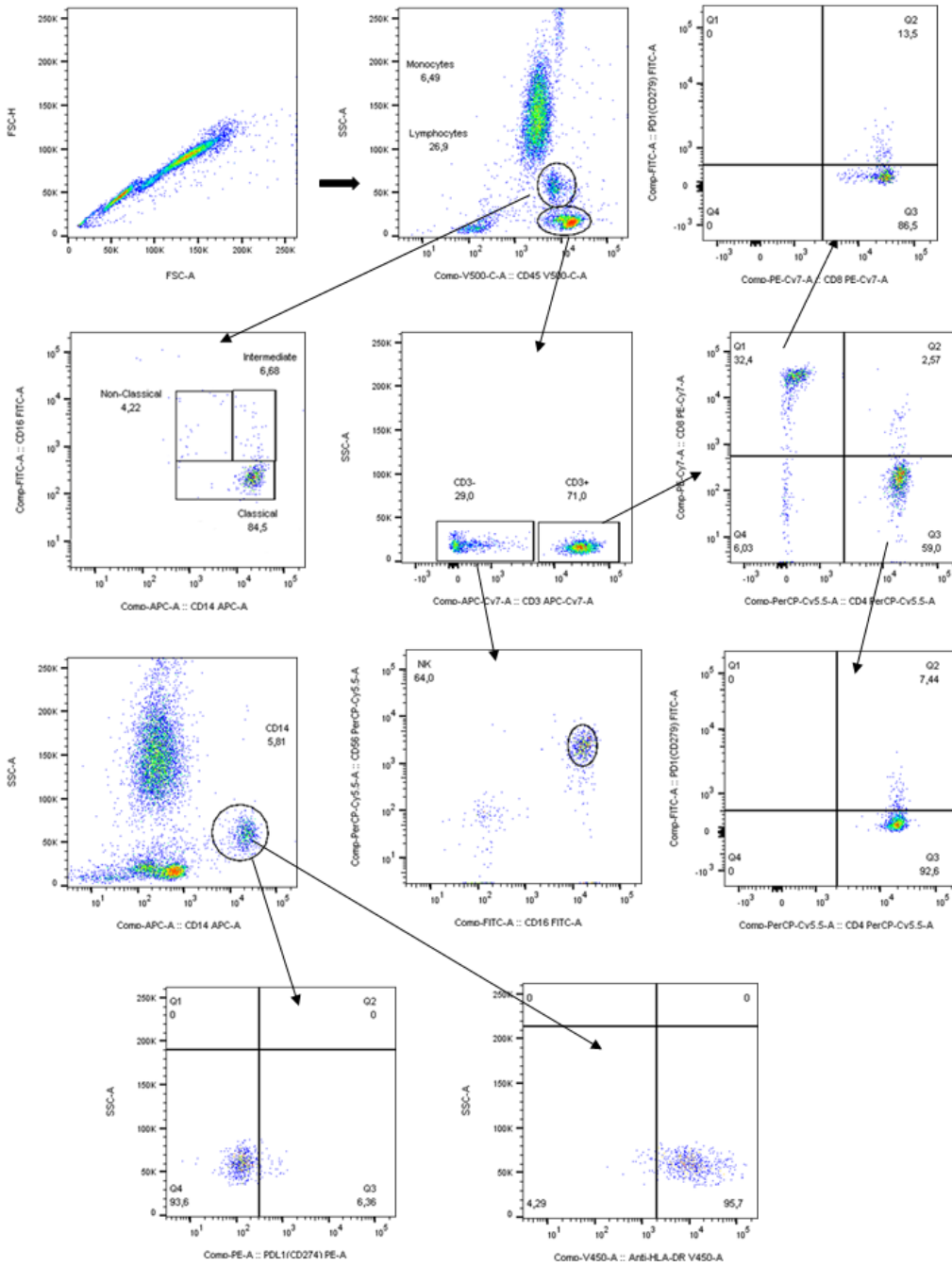
6. 1800 rpm’de 5 dakika santrifüj yapılmasının ardından süpernatant atıldı.
7. Her örneğe 350 µl FACSFlow solüsyon eklendi.
8. Daha sonra hücreler bekletilmeden doğrudan akan hücre ölçerde analiz yapıldı.

3.6. Akan Hücre Ölçerde İmmünofenotipleme İçin Örneklerin Okutulması

1. Analiz, 3 lazer 10 renkli BD FACSLytic akan hücre ölçer ve FACSuite yazılımı programı kullanılarak yapıldı.
2. Kullanılan floresan ve CD antikorları programın tüp özellikleri kısmına yazıldı.
3. Hastanın isim bilgisi programa girildi.
4. “Preview” sekmesi tıklanarak hücreler okunmaya başlandı ve FSC-SSC dot-blot görüntüsünde hücrelerin dağılımına bakılarak voltaj ayarlaması yapıldı.
5. “Acquire” sekmesi tıklanarak örnek okutulmaya başlandı. Örnek başına 10.000 hücre okutulması gerçekleştirildi.

6. CD45-SSC dot-blot görüntüsünde lenfosit, monosit ve granülosit kapıları işaretlendi (Şekil 3.1)
7. Yeni dot-blot sekmeleri açılarak analiz yapılmak istenilen parametreler yatay ve dikey eksenlere yerleştirildi.
8. Açılan dot-blotlar üzerinde hangi hücre popülasyonları üzerinde çalışıldığı seçildi.
9. Her dot-blotda kompensasyon bölümüne girilerek hücrelerin dot-blot görüntüleri kompanse edildi.
10. Açılan dot-blotlarda, antikorsuz tüplerdeki SSC-dedektör pozitiflik sınırına göre hücrelerin ayırım sınırları ve kadranlama gerçekleştirildi.
11. Hücrelerin dağılımları yüzde olarak kadranlara göre not edildi.

Şekil 3.1: Akan hücre ölçer lenfosit ve monositlerin kapılama stratejileri



3.7. Serum Sitokin Ölçümü İçin Akan Hücre Ölçer Örnek Hazırlama İşlem Basamakları

Bu panel, FSC vs SSC kadrantlarında boyutlarına göre ayırt edilen iki boncuk popülasyonuna sahiptir. Küçük boncuklardan oluşan popülasyon kendi içinde altı, büyük

boncuklardan oluşan populasyon ise yedi alt gruba ayrılmaktadır; bu boncuk setleri ileri analiz aşamalarında 6. kanalda izlenmekte ve internal floresan yoğunluklarına göre sınıflanmaktadırlar. Boncuk numaraları ve ilgili sitokinleri tablo 3.3’de sunulmuştur.

Tablo 3-3: Sitokin tayin kiti içerisinde yer alan sitokin boncuk numaralandırması

Sitokin	Boncuk numarası	Sitokin	Boncuk numarası
IL-1 β	A4	IL-8	B2
IFN- α 2	A5	IL-10	B3
IFN- γ	A6	IL-12p70	B4
TNF- α	A7	IL-17A	B5
MCP-1	A8	IL-18	B6
IL-6	A10	IL-23	B7
		IL-33	B9

1. Kutu içeriği ve kitapçığı kontrol edildi.
2. Kutu içerisinden çıkan 25 ml 20x Wash buffer, 475 ml distile su ile 1x olacak şekilde dilue edildi.
3. Kutu içerisinden çıkan kuru Matrix B üzerine, 5 ml Assay buffer eklenerek 15 dakika beklendi.
4. Kutu içerisindeki kuru haldeki Human inflammation panel 1 standart kokteyl 250 μ l Assay Buffer ile sulandırılır ve 15 dakika inkübe edildi.
5. Standartların hazırlanması için 8 adet mikrosantrifüj tüpü C7’den C0’a kadar işaretlendi.
6. C7 tüpüne sadece 250 μ l standart kokteyl, C6 tüpüne 25 μ l standart kokteyl ve 75 μ l assay buffer koyuldu. Her bir sonraki tüp bir öncesine göre 4 kat dilüe edilecek şekilde tablo 3.4’deki gibi standartlar hazırlandı.

Tablo 3-4: Standartların hazırlanması ve dilüsyon oranları

Tüp/Satandart numarası	Dilüsyon	Eklenen Buffer (µl)	Assay	Eklenen Standart
C7	--	--		250 µl
C6	1:4	75		C7'dan 25 µl
C5	1:16	75		C6'dan 25 µl
C4	1:64	75		C5'dan 25 µl
C3	1:256	75		C4'dan 25 µl
C2	1:1024	75		C3'dan 25 µl
C1	1:4096	75		C2'dan 25 µl
C0	---	75		---

7. Serum örnekleri 50 µl serum örneği ve 50 µl Assay buffer olacak şekilde dilüe edildi.
8. 96 kuyucuklu plakaların içerisine her bir kuyucuğa bir örnek olacak şekilde standartlar da dahil olmak üzere standartlara 25 µl standart örneği ve 25 µl Matrix B ve 25 µl miks boncuk, Serum örneklerine ise 25 µl serum örneği ve 25 µl assay buffer ve 25 µl miks boncuk eklendi.
9. Plakanın üzeri aliminyum folyo ile kapatılarak 500 rpm de 2 saat shaker ile sallandı.
10. Plaka 1050 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
11. Her kuyucuğa 200 µl 1x wash buffer eklenerek birdakika inkübe edildi ve 1050 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
12. Her kuyucuga 25 µl kutu içerisinden çıkan detection antibody eklendi.
13. Plaka aliminyum folyo ile sarılarak 800 rpm de bir saat shakerda sallandı.
14. Her kuyucuğa 25 µl kutu içerisinden çıkan SA-PE eklendi.
15. Plaka aliminyum folyo ile sarılarak 800 rpm de 30 dakika shakerda sallandı.
16. Plaka 1050 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.

17. Her kuyucuğa 200 µl 1x wash buffer eklenerek birdakika inkübe edildi ve 1050 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.

18. Her kuyucuğa 150 µl 1x wash buffer eklendi ve akan hücre ölçerde okutuldu.

3.8. Akan Hücre Ölçerde Sitokin Tayini İçin Örneklerin Okutulması

1. Analiz, 3 lazer 13 renkli Beckman Coulter DxFLEX akan hücre ölçer ve LEGENDplex™ Data Analysis Software Version 8 kullanılarak yapıldı.

1. Yeni bir protokol açılarak FSC/SSC-Lin ve PE/APC-Log kadranları ile iki adet APC histogramı eklendi. APC histogramlarının biri FSC/SSC kadranında alınacak A kapısından, diğeri ise B kapısından veri almakta idi.

2. Standart tüplerindeki boncuk popülasyonları FSC/SSC kadranında ayırt edilerek A ve B popülasyonları bulundu. APC histogramlarında A kapısındaki boncukların altı, B kapısındaki boncukların ise yedi farklı boncuk popülasyonuna sahip oldukları doğrulandı.

3. APC kanalından elde edilen sinyal, ilgili sitokinin bağlandığı boncuk popülasyonunu ifade ederken PE kanalından elde edilen sinyal, serum örneğinde bulunan sitokin miktarını göstermektedir. PE/APC kadranlarında her boncuk grubu için APC ekseninden seçilebilen ilgili sayıda boncuk popülasyonu olmalıdır, bu boncukların PE ekseninde daha ileride yer almaları (daha parlak olmaları) ise daha yüksek konsantrasyonu ifade etmektedir.

3.9. İstatiksel Analiz

Analiz sonuçlarına göre yüzde hücre oranları belirlenen lenfosit subtipleri çalışma gruplarına göre yerleştirilerek grupların lenfosit subtipleri yüzde oranları ortalama±standart sapma olarak hesaplandı. Daha sonra her hücre alttipi için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunup bulunmadığı SPSS versiyon 22.0 programında analiz edildi. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov testi ile ölçüldü. Birbirinden bağımsız ve normal dağılım gösteren gruplar arasındaki analiz One-Way Anova Testi ile, birbirinden bağımsız olan ve normal dağılım göstermeyen grupların ise analizi Kruskal-Wallis Testi ile yapıldı. Yapılan analizlerde anlamlı farklılık olması durumunda altgrup analizleri için normal dağılım gösteren gruplara Levene varyans analizi uygulanarak varyans homojenliği değerlendirilmiş, homojen varyans olması durumunda Post Hoc Tukey testi, homojen olmaması durumunda ise Tamhanes's T2 testi, normal dağılım

göstermeyen gruplara ise Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Nitel bağımsız verilerin analizinde Ki-kare test kullanılmıştır.



4. BULGULAR

Çalışmaya katılan 65 akut pankreatit hastası Modifiye Atlanta skorlamasına göre üç gruba ayrılmıştır. Ayrıca kontrol olarak da 20 gönüllü belirlenmiştir. Çalışmaya tüm katılanların ortalama yaşı 51.21 ± 13.92 yıl, kadın/ erkek oranı 49/36 dir. Çalışmaya katılan gönüllülerin gruplara göre demografik verileri bazı kan tetkikleri sonuçları ile Apache 2 sınıflama puanları tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4-1: Çalışmaya Katılan gönüllülerin gruplara göre demografik veri, kan tetkikleri ve Apache 2 skorlarının dağılımları

Parametre	Hafif Pankreatit (n: 24)	Orta Şiddetli Pankreatit (n: 22)	Ağır Pankreatit (n: 19)	Kontrol (n: 20)	p değeri
Yaş (yıl) (Ortalama$\pm$SS)	49.95 $\pm$ 13.39	53.85 $\pm$ 14.02	57.15 $\pm$ 13.52	45.25 $\pm$ 13.11	0.051
Cinsiyet (n,%)	Kadın 13	13	11	12	0.980
	Erkek 11	9	8	8	
Lökosit ($\times 10^9/L$)	11.39 $\pm$ 2.53	12.18 $\pm$ 2.87	13.89 $\pm$ 4.26	8.22 $\pm$ 2.51	0.000
Hematokrit (%)	41.29 $\pm$ 3.26	44.01 $\pm$ 4.13	48.33 $\pm$ 7.83	41.05 $\pm$ 2.71	0.000
Apache 2 skoru	3.29 $\pm$ 1.73	7.68 $\pm$ 2.14	12.94 $\pm$ 4.03	NA	0.000
Hastanede yatış süresi (gün)	3.95 $\pm$ 2.19	9.68 $\pm$ 4.37	25.63 $\pm$ 14.91	NA	0.000

Gruplar arasında hastanede yatış süresinde oluşan farklılık için yapılan altgrup analizlerinde hafif ile orta şiddetli pankreatit arasında (p:0.000), orta ve ağır şiddetli pankreatit arasında (p:0.000), hafif ve ağır şiddetli pankreatit arasında (p:0.000) anlamlı farklılık saptanmıştır.

Gruplar arasında hematokrit değerlerinde oluşan farklılık için yapılan altgrup analizlerinde hafif ve ağır şiddetli pankreatit arasında (p:0.000), orta ve ağır şiddetli pankreatit arasında (p:0.022), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu arasında (p:0.000) anlamlı farklılık saptanmıştır.

Gruplar arasında yaş değerlerinde anlamlı farklılık gözlenmese de yapılan altgrup analizlerinde ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu arasında (p:0.027) anlamlı farklılık saptanmıştır.

Gruplar arasında lökosit değerlerinde oluşan farklılık için yapılan altgrup analizlerinde hafif ile ağır şiddetli pankreatit arasında (p:0.048), hafif şiddetli pankreatit ve kontrol grubu arasında (p:0.006), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu arasında (p:0.000), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu arasında (p:0.000) anlamlı farklılık saptanmıştır.

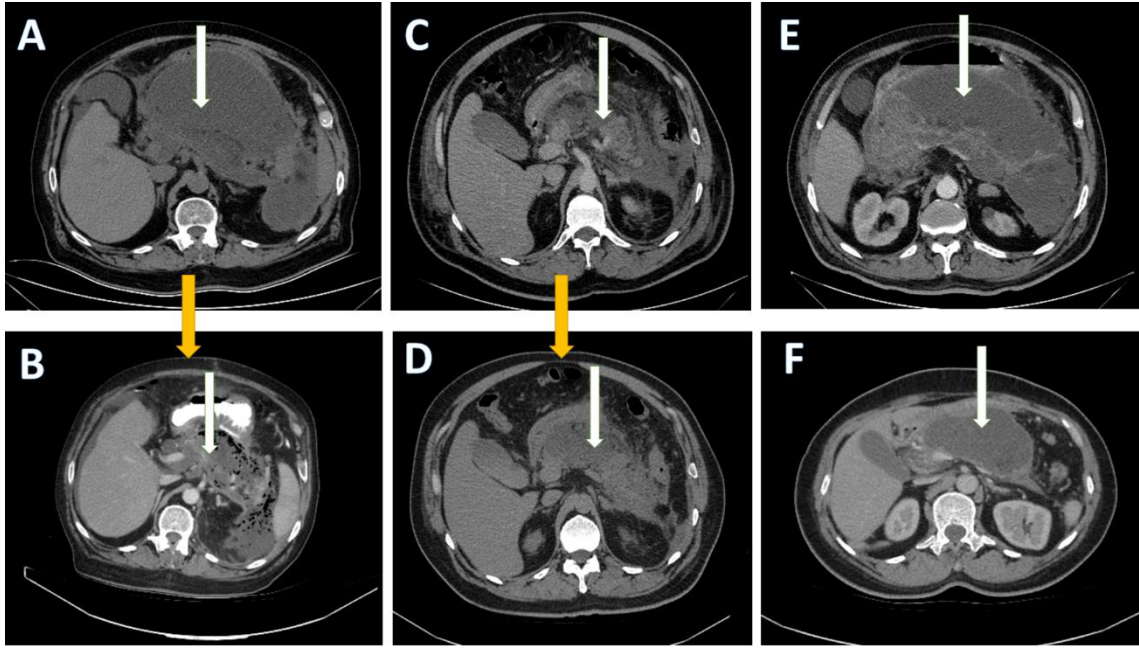
Gruplar arasında Apache 2 skorlarında oluşan farklılık için yapılan altgrup analizlerinde hafif ile orta şiddetli pankreatit arasında (p:0.000), orta ile ağır şiddetli pankreatit arasında (p:0.000), hafif ile ağır şiddetli pankreatit arasında (p:0.000) anlamlı farklılık saptanmıştır.

Akut pankreatit hastalarında gelişen komplikasyonlar ve mortalite oranları ve gelişen organ yetmezliği ile hastalığın evresine göre tablo 4-2’de verilmektedir. Komplike hastaların BT görüntüleri ise şekil 4-1’de gösterilmektedir.

Tablo 4-2: Akut pankreatit evrelerine göre mortalite ve morbidite oranları ile gelişen organ yetmezliklerinin dağılımı

	Hafif Pankreatit (n:24)	Orta şiddette pankreatit (n:22)	Şiddetli Pankreatit (n:19)
Pseudokist (n,%)	3 (%12.5)	3 (%13.63)	1 (%5.26)
Pankreatik nekroz (n,%)	-	2 (%9.09)	5 (%26.31)
Walled of Nekroz (n,%)	-	2 (%9.09)	3 (%15.78)
Enfekte pankreatik Nekroz (n,%)	-	-	2 (%10.52)
Pulmoner yetmezlik (n,%)	-	9 (%40.90)	8 (%42.10)
Renal Yetmezlik (n,%)	-	8 (%36.36)	6 (%31.57)
Kardiyak Yetmezlik (n,%)	-	3 (%13.63)	2 (%10.52)
Pulmoner + Renal Yetmezlik (n,%)	-	-	2 (%10.52)
Renal + Kardiyak Yetmezlik (n,%)	-	-	1 (%5.26)
Mortalite (n,%)	-	-	3 (%15.78)

Sekil 4-1: Pankreatik pseudokist gelişen bir hastanın BT görüntüsü (A), kistogastrostomi sonrasında pseudokistin durumu (B); Pankreatik nekrozun erken döneminde olan bir hasta (C), aynı hastanın nekroz sonrasındaki gelişimi sonrasındaki BT görüntüsü (D), Walled of nekoz gelişen bir hastanın BT görüntüsü (E); Pankreatik pseudokist olan farklı bir hastanın BT görüntüsü (F).



Yapılan akan hücre ölçer analizlerine göre grupların CD3 total T hücre, CD4⁺ Th hücre, CD8⁺ sitotoksik T hücre, CD4⁺ T lenfositler üzerinde PD1, CD8⁺ T lenfositler üstünde PD-1 pozitifliği, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ olan NK hücresi, CD14⁺ monositler üzerinde HLA-DR pozitifliği, monosit alttıplendirmesi, CD14⁺ monositler üzerinde PD-L1 pozitifliği yüzdeleri ve Th hücre ile sitotoksik T hücrelerin birbirlerine oranları tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4-3: Akan hücre ölçer immünofenotipleme sonuçlarının gruplara göre dağılımı

Parametre	Hafif Pankreatit (n: 24)	Orta Şiddetli Pankreatit (n: 22)	Ağır Pankreatit (n: 19)	Kontrol (n: 20)	p değeri
CD3 (%)	69.13±7.60	65.29±7.91	59.34±14.21	72.24±4.66	0.000
CD4 (%)	38.60±7.04	35.98±6.83	30.73±10.91	42.41±6.32	0.000
CD8 (%)	25.31±6.45	23.56±7.45	23.43±7.08	24.63±5.81	0.759
Monosit (%)	5.91±2.18	4.78±1.69	4.06±1.68	5.21±1.21	0.008
Lenfosit (%)	16.21±8.53	10.96±5.57	5.82±3.75	24.90±5.14	0.000
CD4⁺/CD8⁺	1.71±0.88	1.73±0.79	1.39±0.55	1.85±0.64	0.272
CD14⁺HLA-DR⁺ (%)	85.11±5.53	73.49±13.40	65.49±21.05	92.28±3.08	0.000
CD14⁺PD-L1⁺ (%)	13.56±5.18	20.22±8.01	27.02±10.53	7.99±2.67	0.000
CD4⁺PD-1⁺ (%)	15.16±4.38	21.89±10.30	28.17±8.53	10.364±3.11	0.000
CD8⁺PD-1⁺ (%)	17.27±4.65	22.77±8.96	27.04±12.54	13.70±3.35	0.000
CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (NK) (%)	12.62±4.09	9.98±2.79	8.89±3.82	16.88±3.79	0.000
CD14⁺⁺CD16⁻ (Klasik monosit) (%)	76.51±9.01	66.06±10.86	62.87±12.78	79.68±7.12	0.000
CD14⁺⁺CD16⁺ (Intermediate monosit) (%)	11.85±7.60	21.23±10.42	26.17±9.77	10.47±6.96	0.000
CD14⁺ CD16⁺⁺ (Klasik olmayan monosit) (%)	6.75±6.05	6.98±3.07	7.50±5.36	4.66±2.51	0.221

Monosit için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile ağır şiddetli pankreatit arasındaki farklılıktan (p:0.005) kaynaklandığı gözlenmiştir.

Lenfosit için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile orta şiddetli pankreatit (p:0.034), hafif ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.000), hafif şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000), orta ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.040), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p: 0.000), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

CD3⁺ hücreler için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.004), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

CD4⁺ hücreler için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.009), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.048), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (NK) hücreler için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.007), hafif şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.001), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) ve ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

CD4⁺ hücrelerin PD-1 pozitifliği için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile orta şiddetli pankreatit (p:0.016), hafif ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.000), orta ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.028), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p: 0.000), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

CD8⁺ hücrelerin PD-1 pozitifliği için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile orta şiddetli pankreatit (p:0.021), hafif ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.003), hafif şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.003), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

CD14⁺ hücrelerin HLA-DR pozitifliği için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile orta şiddetli pankreatit (p:0.000), hafif ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.000), hafif şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p: 0.000), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

CD14⁺ hücrelerin PDL-1 pozitifliği için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p: 0.000), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

CD14⁺⁺CD16⁻ (klasik monosit) hücreler için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile orta şiddetli pankreatit (p:0.006), hafif ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.000), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p: 0.000), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

CD14⁺⁺CD16⁺ (intermediate monosit) hücreler için yapılan altgrup analizlerinde gruplar arasında olan istatistiksel anlamlılığın hafif ile orta şiddetli pankreatit (p:0.004), hafif ile ağır şiddetli pankreatit (p:0.000), orta şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p: 0.000), ağır şiddetli pankreatit ve kontrol grubu (p:0.000) arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bulunmuştur.

Akan hücre ölçer analizlerine göre grupların IL-1 β , IFN- α 2, IFN- γ , TNF- α , MCP-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p (p70), IL-17A, IL-18, IL-23 ve IL-33 sitokin ölçümleri sonuçları tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4-4: Akan hücre ölçer serum sitokin sonuçlarının gruplara göre dağılımı (SD: Standart dağılım)

Parametre	Hafif Pankreatit (n: 24)	Orta Şiddetli Pankreatit (n: 22)	Ağır Pankreatit (n: 19)	Kontrol (n: 20)	p değeri (Kruskal Wallis Test)
IL-1 β (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	3,10 $\pm$ 4,23	2,98 $\pm$ 1,71	6,42 $\pm$ 7,95	2,40 $\pm$ 0,86	0,450
IFN- α 2 (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	1,82 $\pm$ 2,03	2,88 $\pm$ 3,92	4,63 $\pm$ 6,71	1,86 $\pm$ 1,67	0,451
IFN- γ (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	1,39 $\pm$ 1,59	1,86 $\pm$ 2,13	1,35 $\pm$ 1,34	1,41 $\pm$ 1,76	0,723
TNF- α (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	2,40 $\pm$ 2,42	2,84 $\pm$ 4,52	9,17 $\pm$ 17,48	2,21 $\pm$ 3,00	0,611
MCP-1 (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	855,11 $\pm$ 652,68	1064,97 $\pm$ 1158,40	1173,77 $\pm$ 1223,53	654,23 $\pm$ 396,55	0,515
IL-6 (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	61,55 $\pm$ 88,65	129,17 $\pm$ 228,22	169,84 $\pm$ 213,83	8,06 $\pm$ 16,72	0,000
IL-8 (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	163,30 $\pm$ 293,93	208,76 $\pm$ 368,51	465,57 $\pm$ 717,08	38,87 $\pm$ 119,55	0,000
IL-10 (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	18,11 $\pm$ 35,53	39,87 $\pm$ 66,40	18,88 $\pm$ 24,71	3,05 $\pm$ 4,24	0,001
IL-12p (p70) (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	2,04 $\pm$ 3,27	0,91 $\pm$ 0,71	1,23 $\pm$ 2,29	2,59 $\pm$ 5,87	0,911
IL-17A (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	9,11 $\pm$ 13,30	5,58 $\pm$ 10,91	4,53 $\pm$ 6,82	10,57 $\pm$ 21,29	0,743
IL-18 (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	1776,38 $\pm$ 2555,11	2183,37 $\pm$ 2860,70	1586,55 $\pm$ 1754,66	709,96 $\pm$ 1131,26	0,000
IL-23 (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	3,32 $\pm$ 4,91	4,92 $\pm$ 5,85	11,68 $\pm$ 32,45	6,71 $\pm$ 9,47	0,867
IL-33 (pg/ml) (ortalama $\pm$ SD)	56,39 $\pm$ 136,64	90,73 $\pm$ 178,65	190,64 $\pm$ 316,17	35,44 $\pm$ 94,47	0,003

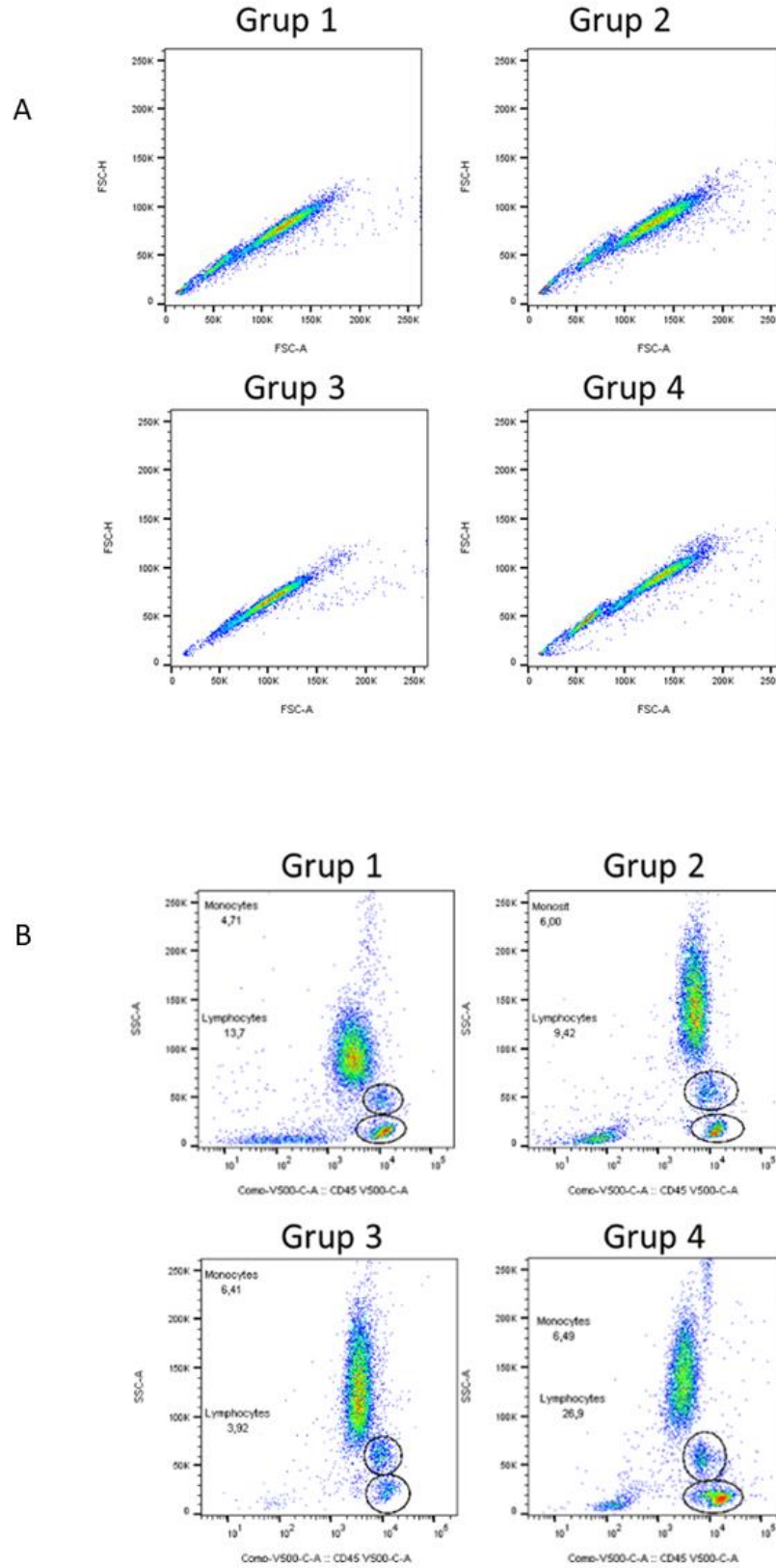
Akan hücre ölçerle yapılan sitokin tayini analizlerde gruplar arasında IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-33 sitokinlerinde anlamlı farklılık saptanmıştır. Yapılan altgrup analizlerinde; IL-6 ve IL-33’de hafif ve ağır pankreatit arasında (sırasıyla p:0.009 ve 0.018), IL-6, IL-8 ve IL-10 hafif pankreatit ve kontrol grubu arasında (sırasıyla p: 0.013, p:0.003, ve p: 0.021), orta şiddetli pankreatit ile kontrol grubu arasında IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-33 grupları arasında (sırasıyla p: 0.000, p:0.000, p:0.000, p:0.004, p:0.013), şiddetli pankreatit ile kontrol grubu arasında IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-33 grupları

arasında (sırasıyla p: 0.000, p:0.000, p:0.003, p:0.018, p:0.001) anlamlı farklılık mevcuttu.

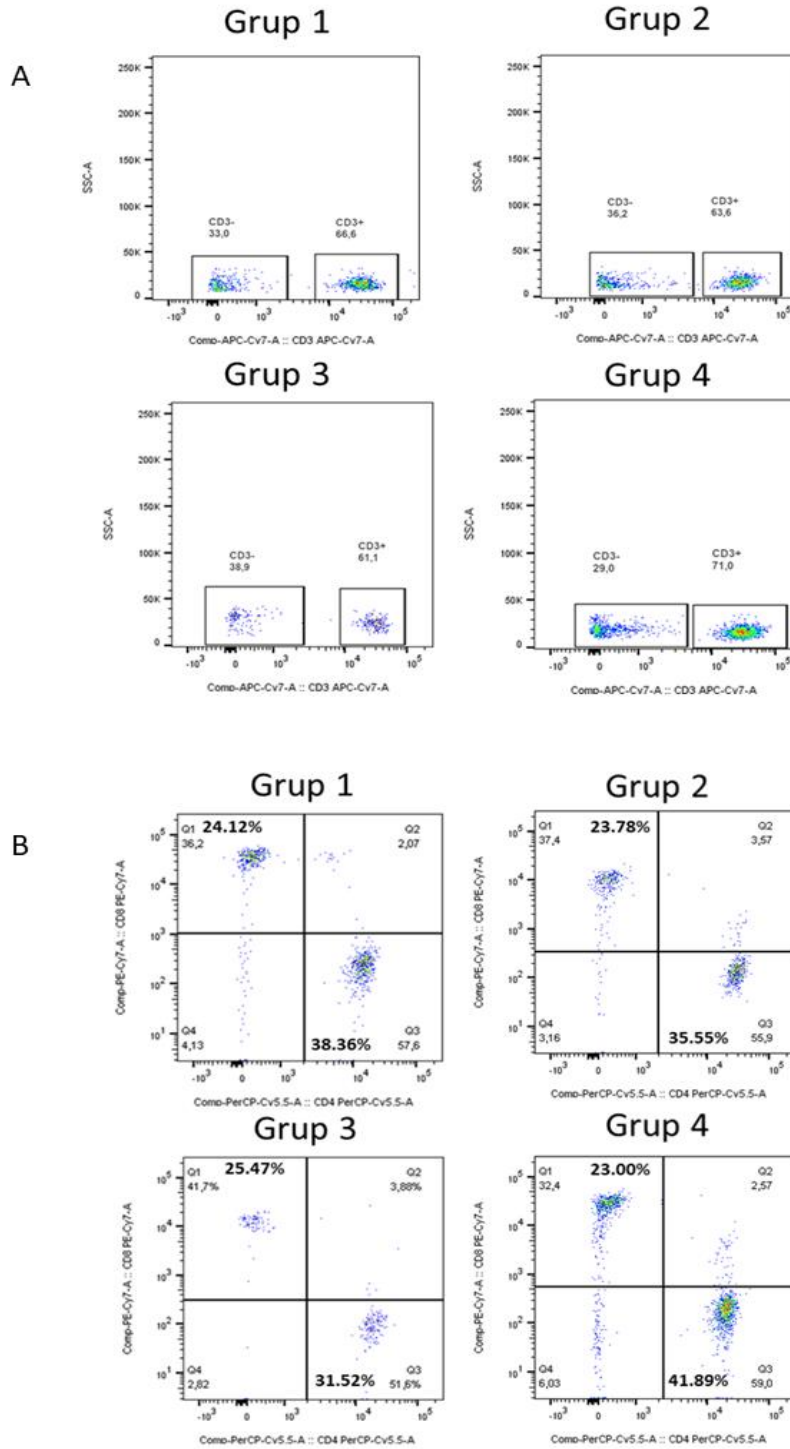
Gruplara göre akan hücre ölçer immünfenotiplleme örneklerinin pseudocolor plot, smooth pseudocolor plot ve density plot görüntü örnekleri şekil 4-2,4-3, 4-4, 4-5, 4-6, 4-7 ve 4-8'de, immünfenotiplleme hücre oran grafikleri şekil 4-9 ve 4-10'da, akan hücre ölçer sitokin ölçümlerinin dot plot- histogram görüntü örnekleri şekil 4-11, 4-12, 4-13 ve 4-14'de, ayrıca gruplara göre sitokin ölçüm grafikleri şekil 4-15 ve 4-16'da belirtilmektedir.



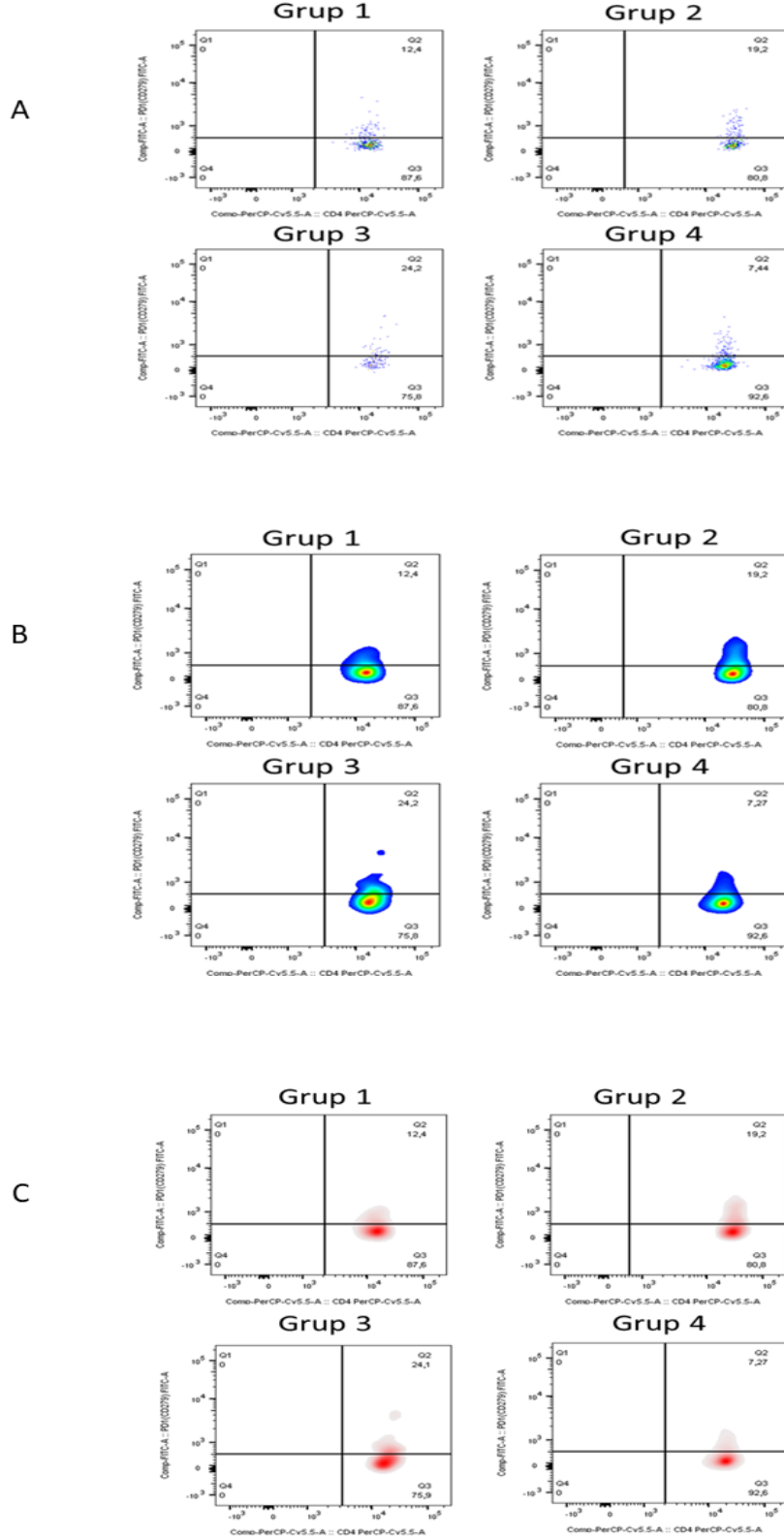
Şekil 4-2: Grupların akan hücre ölçerde tek hücre (A) ve CD45 antikoruna göre (B) hücrelerin dağılımının pseudocolor plot görüntüsü



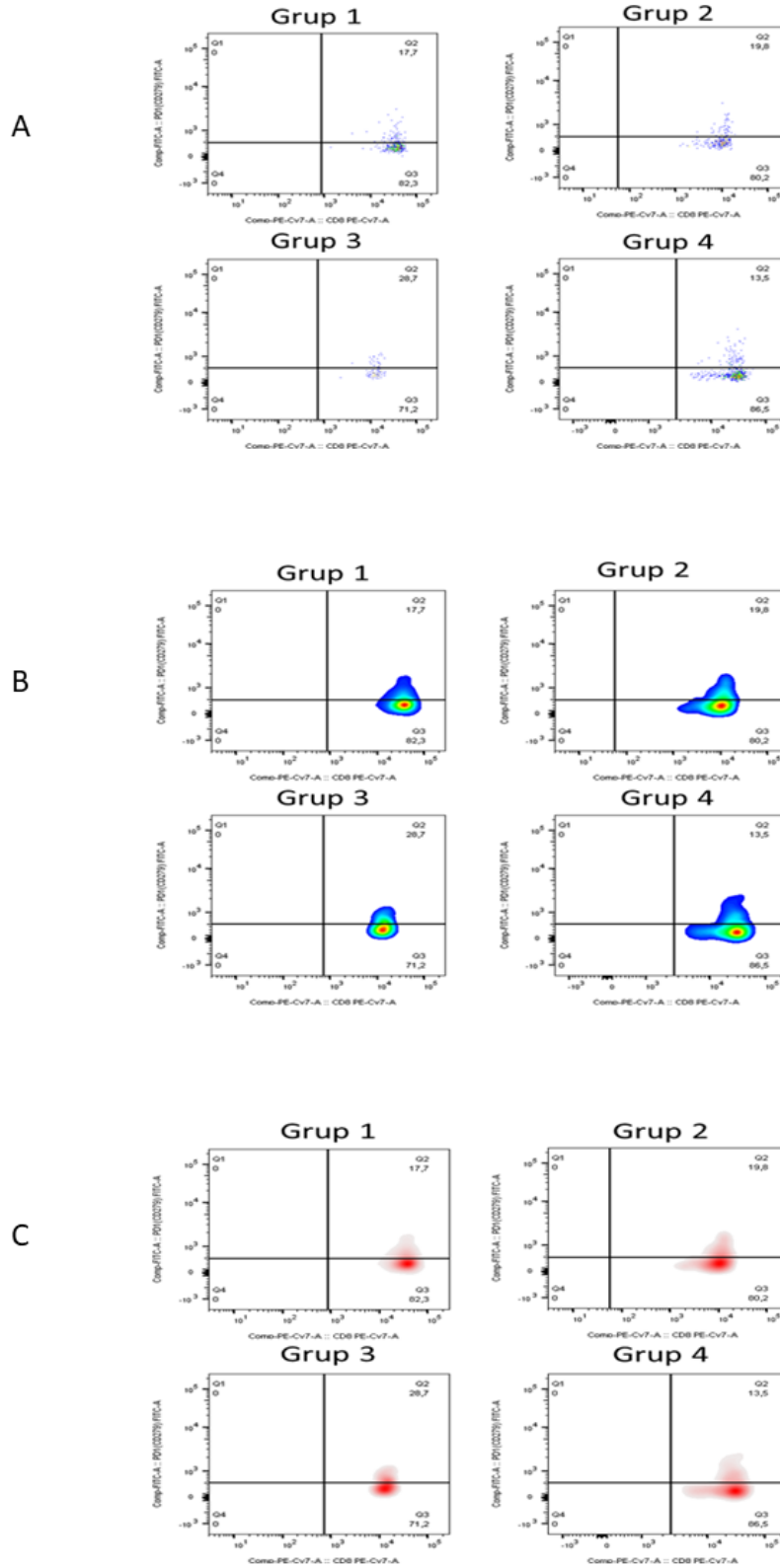
Şekil 4-3: Grupların akan hücre ölçerde lenfosit kapısında CD3 antikoruna göre (A) ve CD3⁺ kapısında CD4 ve CD8 antikorlarına göre (B) hücrelerin dağılımının pseudocolor plot görüntüsü. B görüntüsünde CD4⁺CD8⁻ ve CD4⁻CD8⁺ hücreler için büyük ile belirtilen yüzde oranları total lenfosit içerisindeki oranlardır.



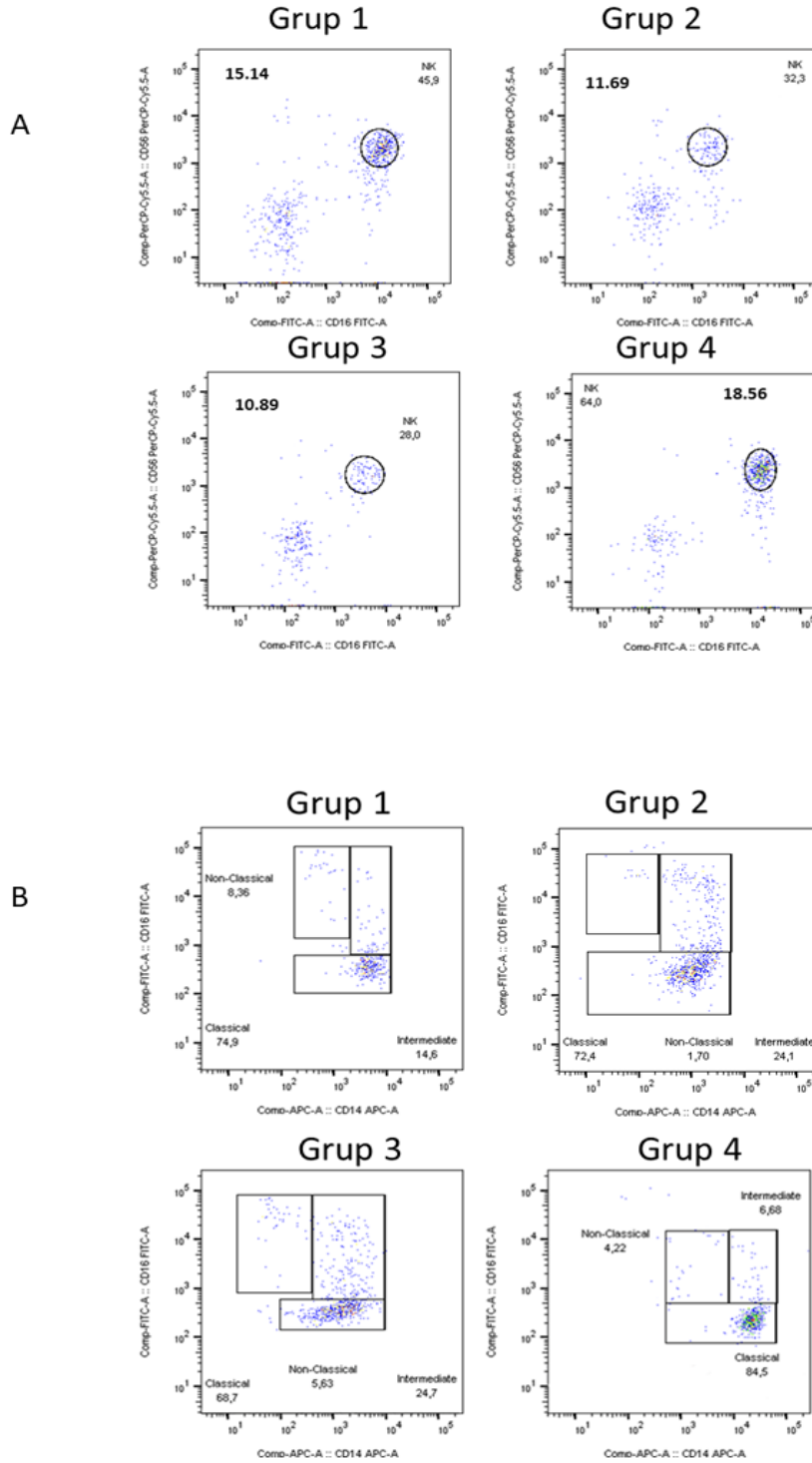
Şekil 4-4: Grupların akan hücre ölçerde $CD4^+CD8^-$ kapısında PD-1 antikorunlarına göre dağılımının pseudocolor plot (A), smooth pseudocolor plot (B) ve density-plot (C) görüntüsü.



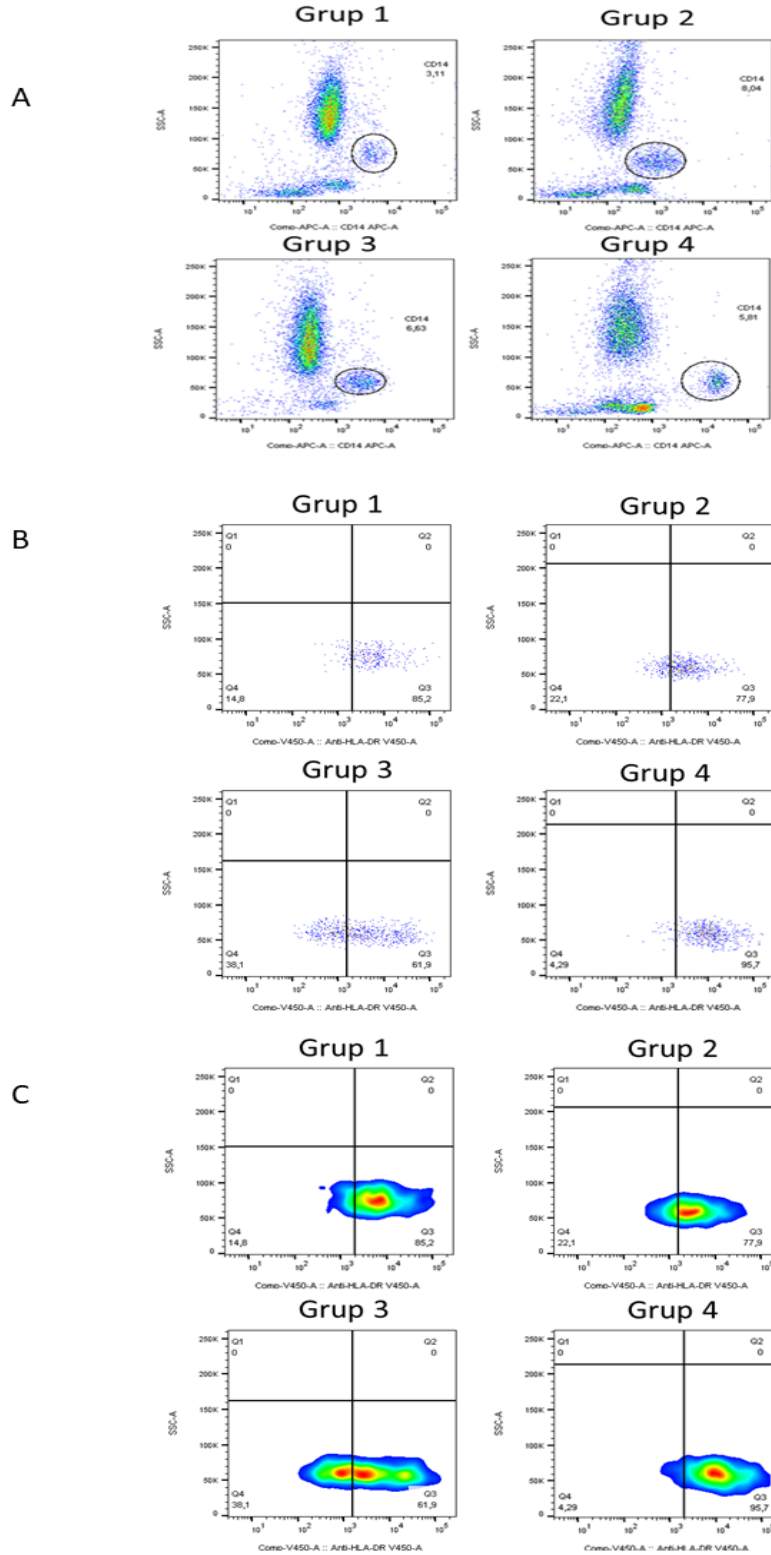
Şekil 4-5: Grupların akan hücre ölçerde CD4⁺CD8⁺ kapısında PD-1 antikorlarına göre dağılımının pseudocolor plot (A), smooth pseudocolor plot (B) ve density-plot (C) görüntüsü.



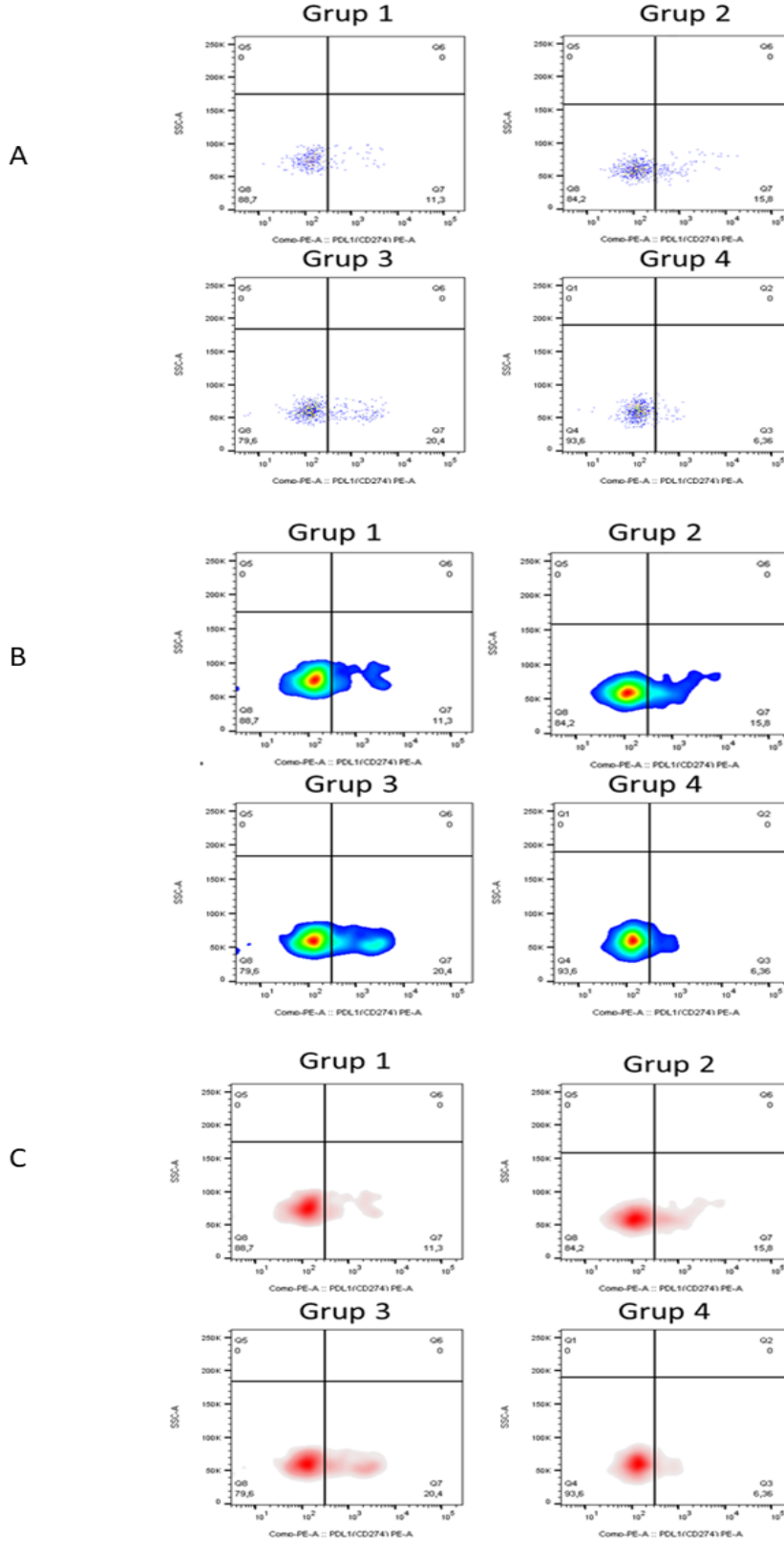
Şekil 4-6: Grupların akan hücre ölçerinde CD3⁺ kapısında CD16 ve CD56 antikorlarına göre (A), monosit kapısında CD14 ve CD16 antikorlarına göre (B) hücrelerin dağılımının pseudocolor plot görüntüsü. A görüntüsündeki CD16⁺CD56⁺ NK hücrelerinin yüzdeleri total lenfosit (büyük sayılar) ve CD3⁺ lenfositler (küçük sayılar) içerisindeki oranları verilmektedir.



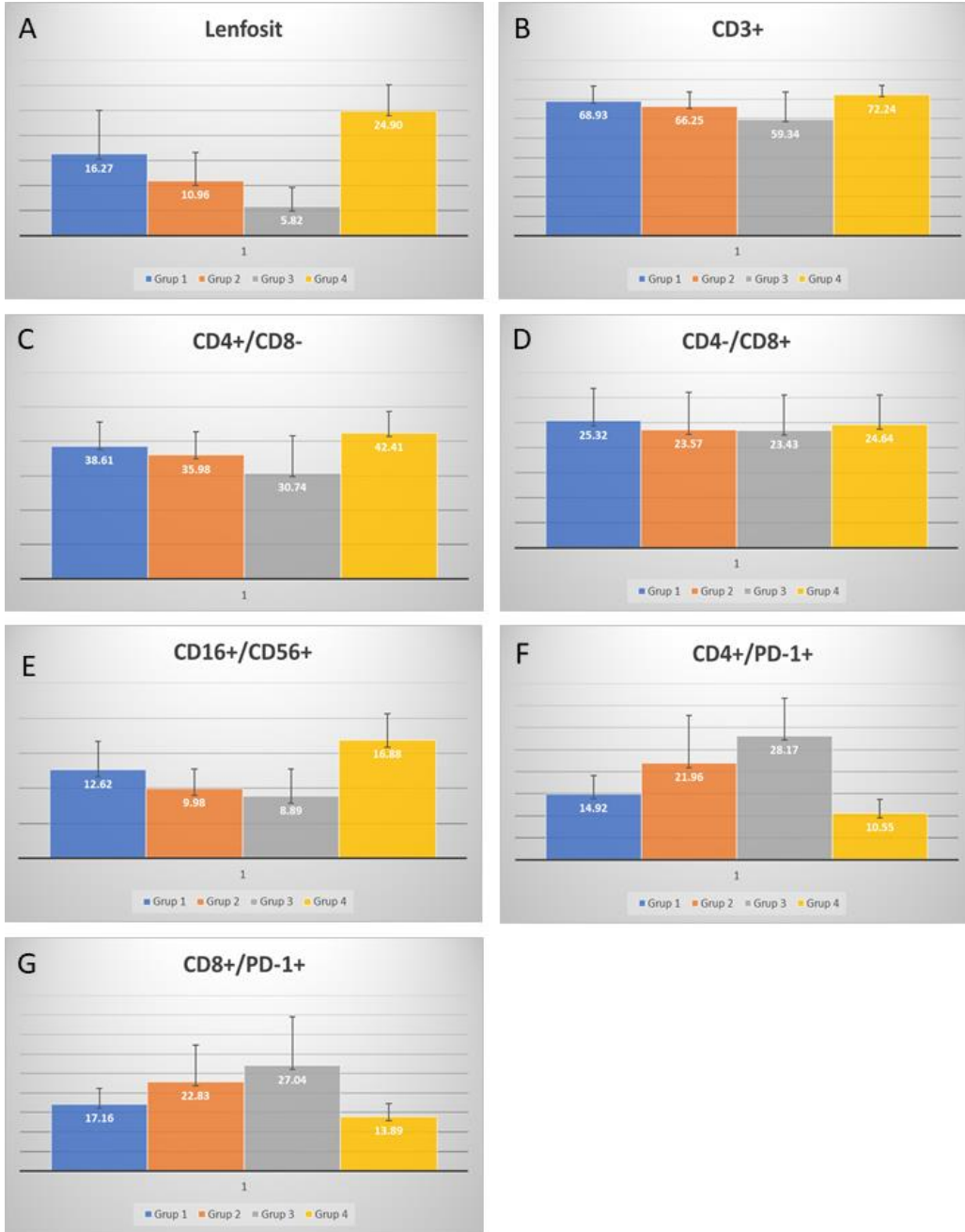
Şekil 4-7: Grupların akan hücre ölçerde CD14 antikoruna göre (A), CD14 kapısında HLA-DR antikorlarına göre (B) hücrelerin dağılımının pseudocolor plot ve CD14 kapısında HLA-DR antikorlarına göre (C) hücrelerin dağılımının smooth pseudocolor plot görüntüsü.



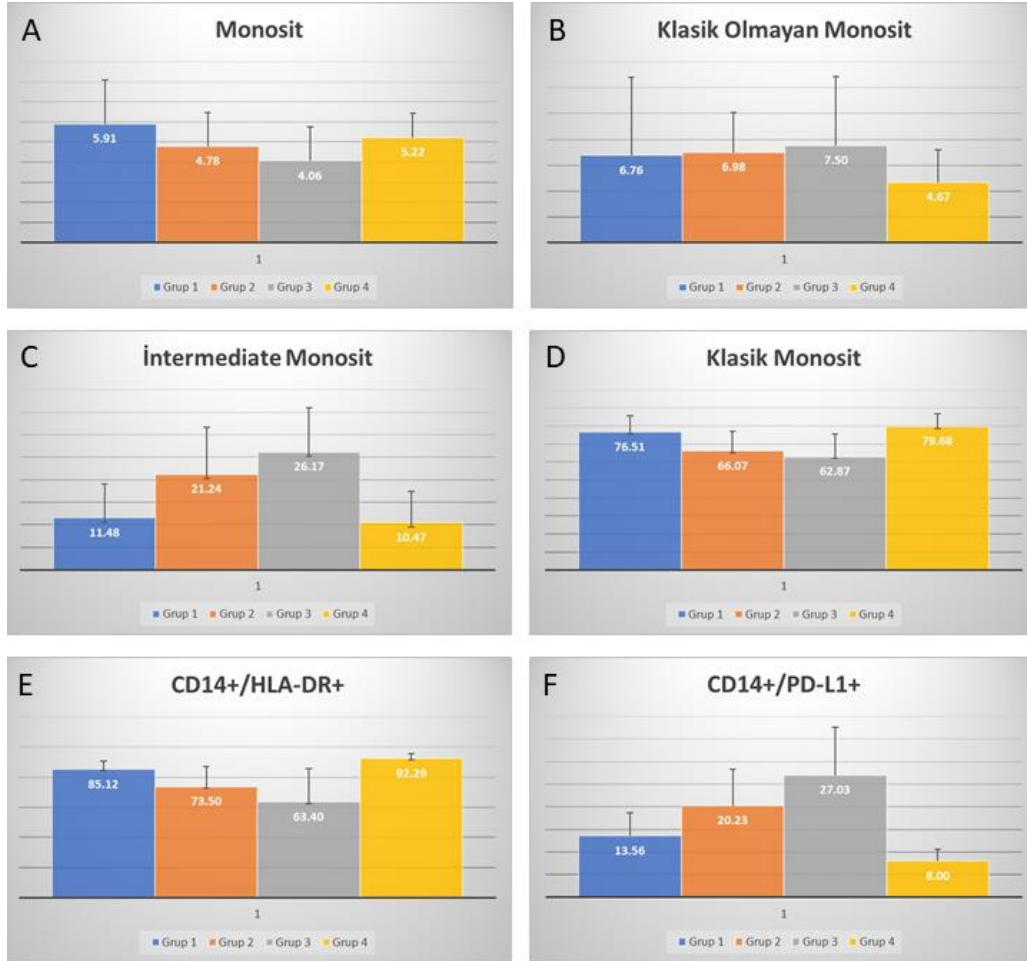
Sekil 4-8: Grupların akan hücre ölçerde CD14 kapısında PDL-1 antikorunlarına göre dağılımının pseudocolor plot (A), smooth pseudocolor plot (B) ve density-plot (C) görüntüsü.



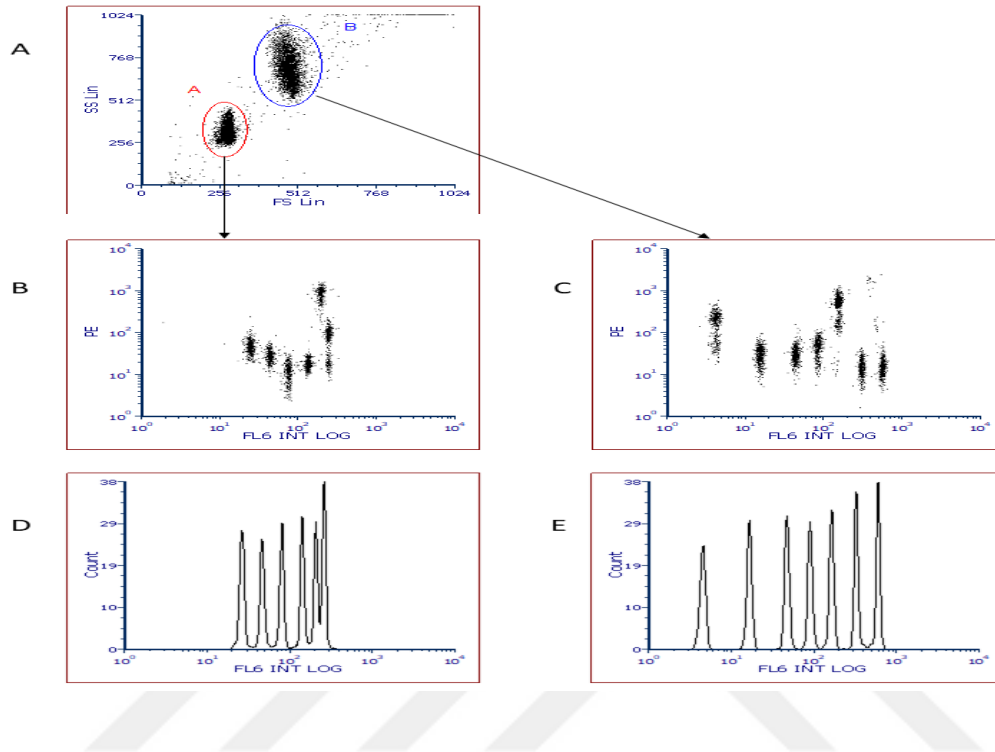
Sekil 4-9: Grupların akan hücre ölçerinde % lenfosit (A), lenfosit kapısında %CD3⁺ (B), lenfosit kapısında %CD4⁺CD8⁻ (C), lenfosit kapısında %CD4⁻CD8⁺ (D), lenfosit kapısında %CD16⁺CD56⁺ (E), CD4⁺ kapısında %PD-1⁺ (F), CD4⁺ kapısında %PD-1⁺ (G), CD8⁺ kapısında %PD-1⁺ dağılımlarının grafiksel görünümü (ortalama±standart sapma).



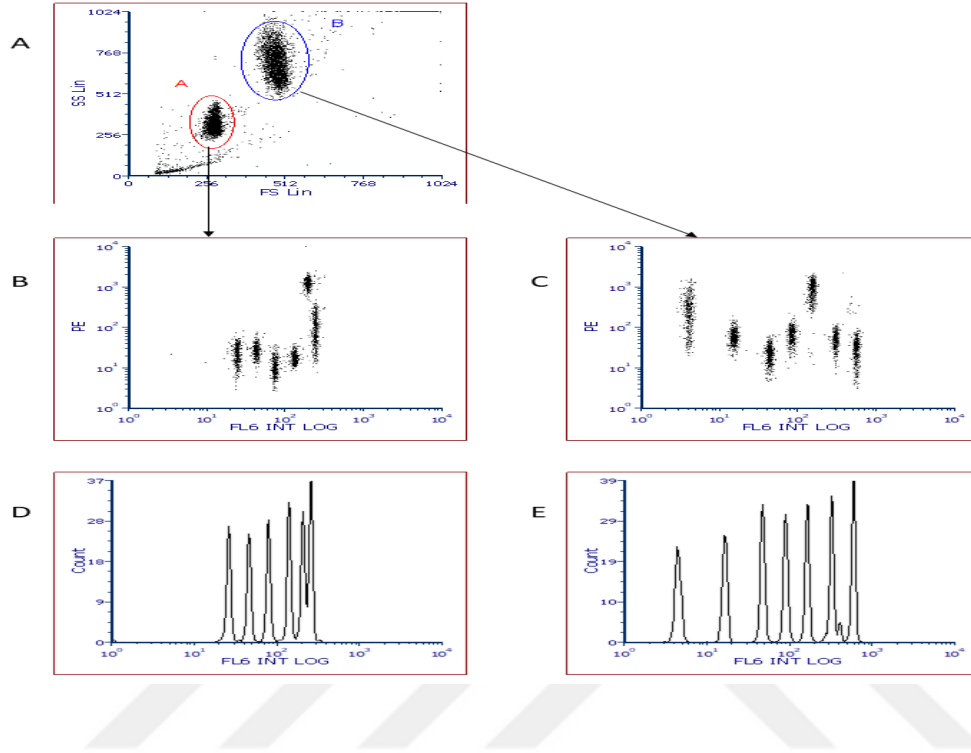
Sekil 4-10: Grupların akan hücre ölçerinde % monosit (A), monosit kapısında %CD14⁺CD16⁺⁺ klasik olmayan monosit (B), monosit kapısında %CD14⁺⁺CD16⁺ intermediate monosit (C), monosit kapısında %CD14⁺CD16⁻ klasik monosit (D), CD14⁺ kapısında %HLA-DR⁺ (E), CD14⁺ kapısında %PD-L1⁺ (F) dağılımlarının grafiksel görünümü (ortalama±standart sapma).



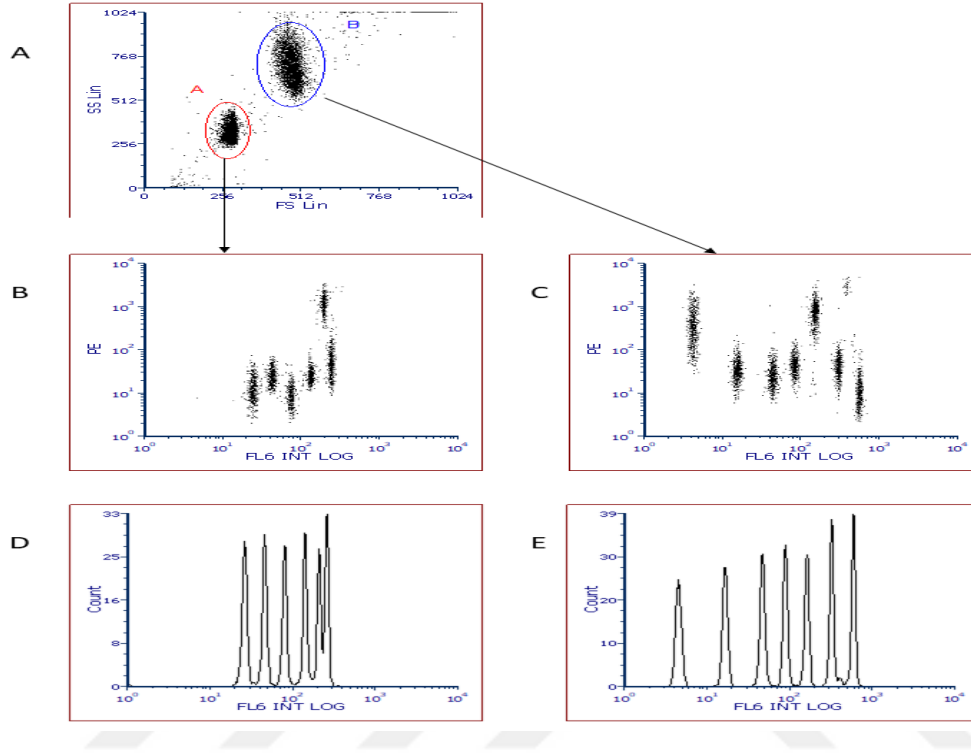
Sekil 4-11: Grup 1'in akan hücre ölçerde sitokin analizinin dot-plot (A,B,C) ve histogram görüntüsünün (D,E) örneği.



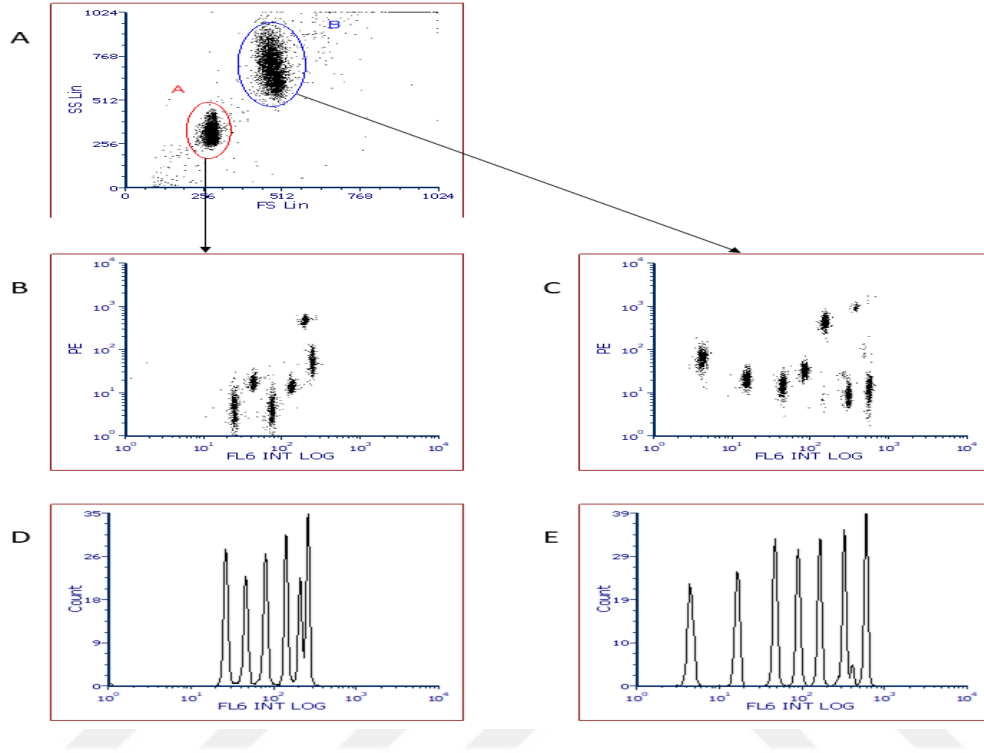
Sekil 4-12: Grup 2'in akan hücre ölçerde sitokin analizinin dot-plot (A,B,C) ve histogram görüntüsünün (D,E) örneği.



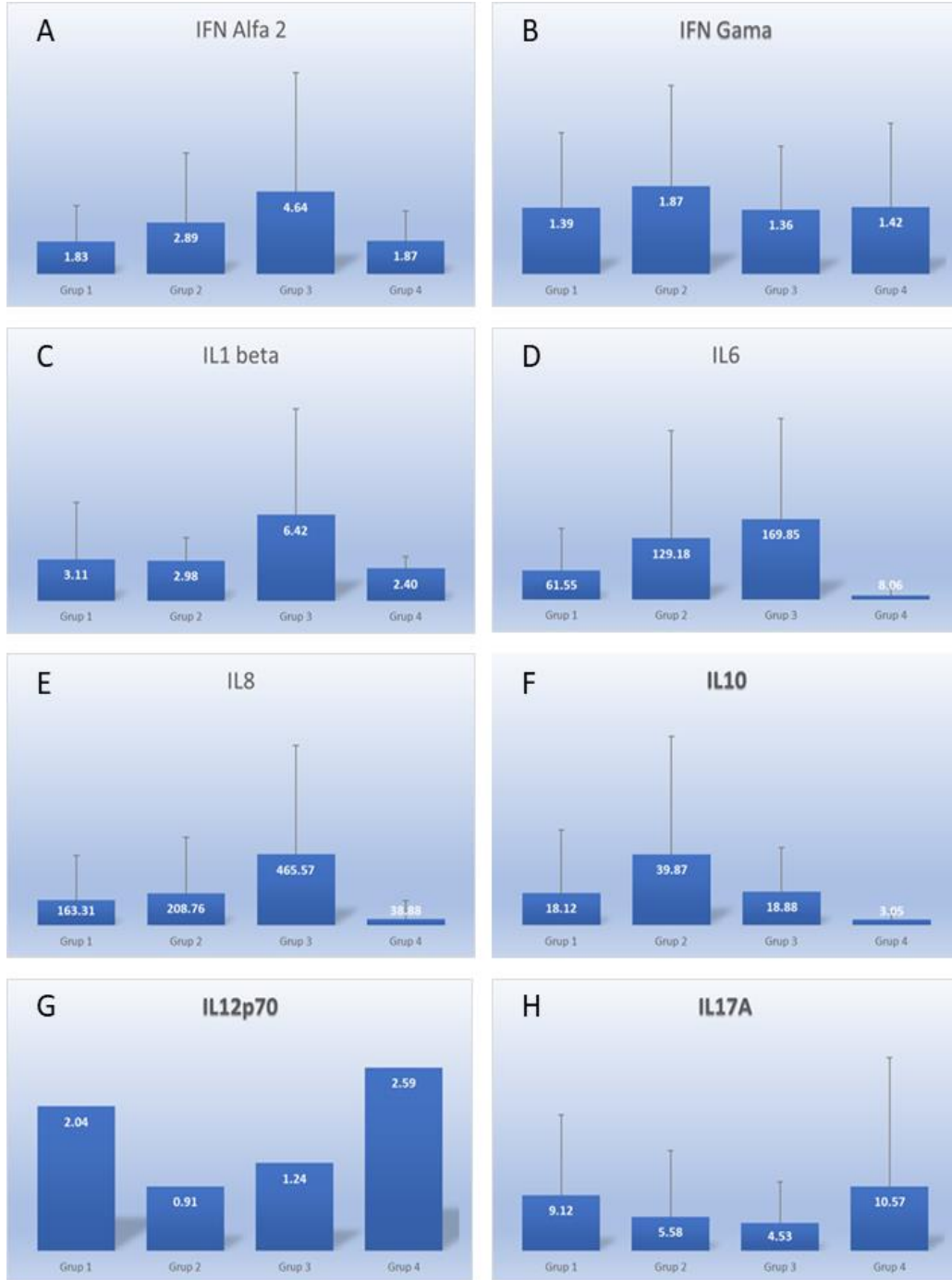
Sekil 4-13: Grup 3'in akan hücre ölçerde sitokin analizinin dot-plot (A,B,C) ve histogram görüntüsünün (D,E) örneği.



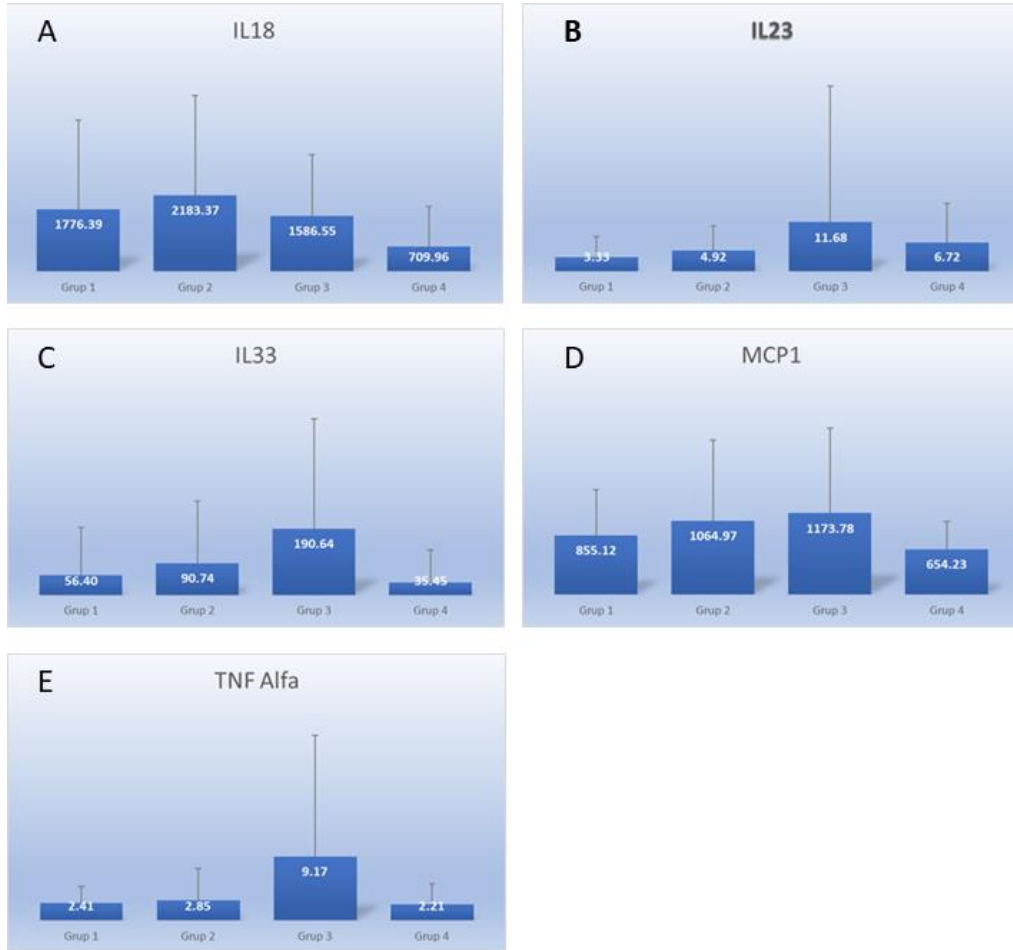
Sekil 4-14: Grup 4'ün akan hücre ölçerde sitokin analizinin dot-plot (A,B,C) ve histogram görüntüsünün (D,E) örneği.



Sekil 4-15: Gruplara göre IFN Alfa 2 (A), IFN Gamma (B), IL1 beta (C), IL6 (D), IL8 (E), IL10 (F), IL12p70 (G), IL17A (H) sitokin değerlerinin (pg/ml) dağılımı



Sekil 4-16: Gruplara göre IL18 (A), IL23 (B), IL33 (C), MCP1 (D), TNF alfa(E) sitokin değerlerinin (pg/ml) dağılımı



5. TARTIŞMA

Pankreatit, en sık görülen gastrointestinal hastalıklardan olup, devam eden veya kronik inflamasyon, immün disfonksiyon ve pankreasta kontrol edilemeyen inflamatuvar malign transformasyon olarak tanımlanır ^{130, 131}. Akut pankreatit şiddeti morbidite ve yüksek riskle ilişkili olup asiner hücre hasarı ve ekzokrin anormalliklerle karakterizedir. Bu hiperinflamatuvar sürece, SIRS ve hatta MODS'u tetikleyebilen, doğal immün sistem elemanlarının (esas olarak makrofajlar ve nötrofiller) sızması eşlik eder. Bir sonraki aşama, T hücrelerinin hiperinflamasyona karşı koruyucu bir rol oynadığı düşünülen antiinflamatuvar yanıtıdır ¹³². İnflamatuvar uyarıcılar aktif kalırsa, pankreas, kronik pankreatit (KP) için tipik olan kalıcı ve geri dönüşü olmayan bir fibrotik reaksiyona girer ^{133, 134}. 2019 raporuna göre, ABD'de pankreatit için tahmini yıllık ayakta hasta ziyaretlerinin sayısı 757.161'dir. Pankreatit, pankreas hastalıklarında hastaneye yeniden başvuru oranları arasında ilk 30 günlük süreç değerlendirildiğinde dördüncü en yüksek orana sahiptir ve toplam sağlık harcamalarının 2.386 milyon \$'ını oluşturmaktadır ¹³⁴. Ek olarak, pankreatit, şu anda en ölümcül dördüncü malignite olan ve 2030'da ABD ve Avrupa'da ikinci en ölümcül kanser olacağı tahmin edilen pankreas kanserinin gelişimi için önemli bir aracı ve uzun vadeli risk faktörü olarak kabul edilir ^{135, 136}.

Akan hücre ölçer, immünoloji, moleküler biyoloji, bakteriyoloji, viroloji, kanser biyolojisi ve bulaşıcı hastalık izleme uygulamalarına sahip güçlü bir araçtır. İmmün sistem ve hücre biyolojisinin diğer alanlarında yapılan çalışmalarda benzeri görülmemiş ayrıntılara olanak tanıyarak son 30 yılda çarpıcı gelişmeler kaydetmiştir. Pankreatit gibi inflamasyona sebep olan birçok hastalıkta özellikle immünfenotiplendirme için akan hücre ölçer kullanılabilecek tanı yöntemlerinden birisidir ^{14, 128, 129}.

İmmün sistemdeki değişiklikler, şiddetli AP'de erken ve geç mortaliteden sorumlu ana mekanizmalardan biridir. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu olarak bilinen aşırı inflamatuvar reaksiyon, erken AP'de önde gelen ölüm nedeni olarak kabul edilir ¹³⁷⁻¹³⁹. Bu fenomende lenfositlerin rolü kısmen incelenmiştir ve insanlardaki mekanizmalarla ilgili bilgi hala eksiktir ¹⁴⁰⁻¹⁴³.

T hücreleri, Th hücreleri, sitotoksik T hücreleri, Treg, hafıza T hücreleri, NK hücreleri ve gama delta ($\gamma\delta$) T hücreleri dahil olmak üzere farklı işlevlere sahip birkaç alt grubu kapsar ¹⁴⁴. Nötrofiller ve monositler / makrofajlar, inflamasyonlu pankreası infiltre eden başlıca lökosit popülasyonları olarak varsayılırken, inflamasyon bölgesi ve

dolaşımdaki T hücrelerinde yerel dengesizlikler pankreatitte gözlemlenmiştir ¹⁴⁵, bu da T hücrelerinin pankreatitin ilerlemesi üzerinde belirgin bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir ^{146, 147}.

Travmaya bağlı hücrel immün bozukluklarda lenfopeni hakkındaki verilerin çoğu, B hücreleri hakkında yetersiz bilgi içerirken T hücrelerine atıfta bulunur. Akciğer ve/veya böbrek yetmezliği, bu organları etkileyen spesifik hastalıkların seyri sırasında meydana gelebileceği gibi şiddetli AP dahil dokuya zarar veren olaylardan kaynaklanan çoklu organ yetmezliği (MOF) veya MODS'un bir parçası olabilir. Üremik hastalarda periferik kanda CD4⁺ ve CD8⁺ hücrelerden ziyade B hücrelerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu fenomen kısmen, azalmış Bel-2 ekspresyonu ile ilişkili artan apoptoz duyarlılığına bağlanabilir ¹⁴⁸. Sadece doku hasarı değil, periferik kan B hücrelerinin normal olduğu T lenfopeni son dönem böbrek hastalığında yakın zamanda bildirilmiştir ^{149, 150}. T hücrelerinin ex vivo değerlendirilmesi, aneksin V ve CD95 (Fas) pozitif T hücrelerinin sayısında artış olduğunu göstermiştir ve bu da, bu lenfosit alt popülasyonunun aşırı eliminasyonundan apoptozun sorumlu olabileceğini düşündürmektedir ¹⁵⁰. Yakın zamanda, naif CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinin yanı sıra CD4⁺ merkezi hafıza hücrelerinin aktivasyonu ve seçilmiş kaybı ile ilişkili böbrek fonksiyonunda progresif bir azalma bildirilmiştir. Bu değişiklikler, kronik böbrek hastalığı olan hastalarda üremi ile ilişkili immün defektin klinik fenomenine katkıda bulunabilir ¹⁴⁹. Ani, yaşamı tehdit eden bir akciğer yetmezliği olan ARDS, şiddetli AP ve diğer hastalıkların seyrini kritik doku hasarı ile komplike hale getirebilir. Akut solunum sıkıntısı sendromu gelişimine sebep olan şiddetli akut solunum sendromu (SARS) hastalarında son yayınlarda şiddetli lenfopeni bildirilmiştir ¹⁵¹. Pnömoni renal transplantasyon hastalarında meydana gelen ARDS'ye, kan CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinde önemli bir azalma eşlik eder. Bu hastalarda, hastalığın iyileşmesi, immün sistemlerinin iyileşme sürecine karşılık gelmektedir ¹⁵². Sonuç olarak, mevcut veriler, farklı lenfosit alt popülasyonlarının azalmasının neden olduğu lenfopeninin sadece şiddetli AP için değil, aynı zamanda ciddi doku hasarı olan diğer hastalıklar için de karakterize edildiğini göstermektedir. Pankreatit hastalarında lenfosit subgruplarını değerlendiren bir çalışmada lenfosit sayılarında ağır pankreatit hastalarında azalma saptanmıştır. Bu çalışmada hafif ve ağır pankreatit hastalarında kontrol grubuna göre CD4⁺ T lenfosit popülasyonunda önemli azalma saptanmış, CD8⁺ T lenfositlerin ise normal aralıkta olduğu gözlenmiştir.

Bunun da $CD4^+CD8^+$ hücre oranlarında geçici bir dengesizlik oluşturduğu vurgulanmıştır¹⁵³.

$CD4^+$ Th hücreleriyle ilgili son kapsamlı kanıtlar, AP hastalarında periferik $CD4^+$ T hücrelerinde önemli bir azalma ve bozulmuş bir aktivite göstermektedir^{154, 155}. Ayrıca, dolaşımdaki azalmış $CD4^+$ T hücre popülasyonu ile şiddetli AP sırasında lokal nekroz, SIRS ve kalıcı organ yetmezliği gibi komplikasyonlar arasında yakın bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Hem prospektif bir araştırma hem de retrospektif bir çalışma, AP'in başlangıcında periferik $CD4^+$ T hücrelerinde bir azalma olduğu gözlenmiş, bunun da AP'in klinik sonuçlarını veya kalıcı organ yetmezliğine ilerlemesini tahmin etmek için basit, erken ve doğru bir parametre olduğunu %61,54 duyarlılık ve %90 özgüllük ile ortaya koymuştur^{15, 156}. Akut pankreatitte meydana gelen bu periferik kan lenfosit tükenmesi, hem aşırı apoptozdan hem de inflamasyon bölgesine göçten kaynaklanabilir¹⁵³.

$CD4^+$ T hücrelerinin apoptotik hızı, AP durumunda SIRS'nun gerilemesine kadar geçen gün sayısı ile pozitif olarak ilişkili olmasına rağmen SIRS'nun geç gerilemesiyle ilişkili değildir¹⁵⁷. Ayrıca, Liu ve arkadaşları periferik $CD4^+$ T hücrelerinin sürekli düşük seviyesinin şiddetli AP'deki abdominal kompartman sendromunun potansiyel bir prediktörü olduğunu gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, duyarlı hale gelmiş $CD4^+$ T hücrelerinin, inflamasyon bölgesine göç ederek, AP sırasında pankreasta önemli ölçüde artmış $CD4^+$ T hücre sayısına yol açtığını söylemişlerdir¹⁵⁸.

Curley ve arkadaşlarının¹⁴⁰ yaptığı çalışmada, hafif formla karşılaştırıldığında, lokal komplikasyonlar (nekroz, apse veya psödokist) gelişmiş olan akut pankreatit hastalarında $CD4^+$ T hücrelerinin oranında önemli bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Pezzilli ve arkadaşları¹⁴¹, ağır pankreatit vakalarında hastanede yatış anında $CD4^+$ hem de $CD8^+$ T hücrelerinde anlamlı bir azalma gözlemlemişlerdir. Bir başka çalışmada ise, $CD4^+$ T hücrelerinin hafif forma kıyasla şiddetli pankreatitlerde daha da azaldığını bildirirken, $CD8^+$ hücreleri ve $CD4^+CD8^+$ oranının farklı olmadığını bildirmiştir¹⁵⁹.

Yapılan bu çalışmaların tersi yönde çok az çalışma mevcuttur. Yapılan bir çalışmada akut pankreatitte $CD3^+$ hücrelerinin ve $CD3^+CD4^+$ Th lenfositlerin yüzdesinin pankreatitin şiddetiyle birlikte arttığı, $CD3^+CD8^+$ sitotoksik T lenfositlerin yüzdesinin de azaldığı bildirilmiştir¹⁶⁰. Bugüne kadar, $CD8^+$ T hücrelerinin AP'de baskılandığının mı veya sitotoksikite mi sergiledikleriyle ilgili bir fikir birliği yoktur. Bir çalışma fark

olmadığını bildirirken ¹⁵⁸, diğerleri CD8⁺ T hücrelerinde önemli bir tükenme veya artış bildirmektedir ^{161, 162}. Fonteh bu çelişkili sonuçların, sekonder bakteriyel enfeksiyonların varlığından kaynaklanabileceğini öne sürmüştür ¹⁶³. Bir septik olay sırasında CD4⁺ T hücrelerinde meydana gelen apoptotik olaylar, tüm antijene özgü efektör CD4⁺ T hücre popülasyonlarını ciddi şekilde etkiler. Akut olarak, CD4⁺ T hücrelerinin azalması, çeşitli adaptif immün fonksiyonları önemli ölçüde etkiler. CD4⁺ T hücreleri sayısal olarak etkilenmese bile, sepsise bağlı immün baskılama, CD4⁺ T hücresi yanıtlarının değişmesinde etkili olmaktadır ve potansiyel olarak CD4⁺ T hücresi baskılanmasında birden fazla mekanizma yer almaktadır. Postseptik CD4⁺ T hücresi yanıtlarını kalitatif ve kompozisyonel olarak değiştirmek için T hücrelerinin reseptör repertuar kullanımında, antijen bağlama afinitesinde, proliferatif kapasitede ve sitokin üretimindeki değişiklikler meydana gelebilir ¹⁶⁴. Bizim çalışmamızda da literatürdeki birçok çalışmaya benzer şekilde, CD3⁺ lenfositler ile CD4⁺ Th lenfositlerin oranları pankreatitin şiddeti ile anlamlı oranda azalmakta iken, CD8⁺ T hücrelerinin oranı ile CD4/CD8 T lenfosit oranına ise anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Sepsise bağlı monositik disfonksiyonu olan hastaları tanımlamak için çeşitli biyobelirteçler geliştirilmiştir. En çok araştırılan belirteçlerden biri, insan lökosit antijeni HLA-DR'nin hücre yüzeyindeki ekspresyonunu içerir. Azalmış HLA-DR ekspresyon seviyeleri septik hastalarda daha yüksek mortalite ve artan nozokomiyal enfeksiyon ile ilişkilendirilmektedir ¹⁶⁵. Yapılan bir çalışmada akut pankreatit hastalarında enfeksiyöz komplikasyonlar olması durumunda CD14⁺ monositlerinde HLA-DR ekspresyonunun azaldığı bildirilmektedir ¹⁷. Akut pankreatitin başlangıcında HLA-DR eksprese eden CD14⁺ monositlerin yüzdesinin akut pankreatitte enfeksiyöz komplikasyonlar ile bağımsız olarak ilişkili olduğunu bildirilmektedir. Birçok çalışmada, HLA-DR ekspresyonunun akut pankreatitli hastalarda kötü prognoz ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir ^{166, 167}. HLA-DR⁺ monositlerinin tükenmesi, organ disfonksiyonu ile komplike olan şiddetli AP'de bildirilmektedir ¹⁶⁸. Bu raporların tersine S-AP'de, toplam monosit sayısında ve CD14⁺ monositlerinde önemli oranda, monosit yüzdesinde ise orta derecede artış olduğunu yine CD14⁺HLA-DR⁺ monositlerinde de önemli oranda bir artış olduğunu bildiren az sayıda yayın mevcuttu ¹⁶⁹. Bizim çalışmamızda da literatürdeki birçok çalışmaya benzer şekilde CD14⁺ monositler üzerinde HLA-DR ifadesi pankreatit şiddeti ile azalmaktadır.

Monosit alt tipleri ile yapılan birçok çalışmada CD16⁺ olan altgrupların kanser, sepsis vb. birçok inflamatuvar olayda arttığı, klasik monositlerin ise değişmediği veya azaldığı gösterilmektedir ¹⁷⁰. Akut pankreatit ile monosit alttipleri arasındaki ilişkiyi değerlendiren literatürde çok az sayıda çalışma mevcuttur. Yapılan bir çalışmada CD14^{hi}CD16⁻ monositlerinin yüzdesinin pankreatitle birlikte arttığı, fakat bu artışın AP hastalarının etiyolojisi ile ilişkili olmadığını göstermektedir. Aynı çalışmada monosit trafiği ile ilgili sitokinlerden olan MCP-1 ve MCP-3'ün ile inflamasyonda rol oynayan IL-6, IL-10, IL-15 ve IL-1RA1 gibi sitokinlerin şiddetli AP hastalarında önemli ölçüde yükseldiği, yine önemli bir inflamatuvar belirteç olan TNF- α 'nın ise değişmediği bildirilmiştir. Ayrıca CD14^{hi}CD16⁻ monositler üstünde HLA-DR ekspresyonunun pankreatit şiddeti arttıkça azaldığı, yine CD4⁺ T hücrelerin oranının da pankreatit şiddetine bağlı olarak azaldığı bildirilmektedir ¹⁷¹. Bizim çalışmamızda total monosit oranlarının pankreatit şiddeti ile azalma gösterdiği, monosit alt tiplendirmesinde ise literatüre göre farklı olarak CD14^{hi}CD16⁻ (klasik) monositlerin oranının pankreatit şiddeti arttıkça azaldığı, CD14^{hi}CD16⁺ (intermediate) monositlerin oranı ise pankreatitin şiddeti ile orantılı olarak arttığı saptanmıştır. Aynı zamanda CD14^{dim}CD16⁺ (klasik olmayan) monositler de pankreatit şiddeti arttıkça artmakta olmasına rağmen anlamlı bir yükselme gözlenmemiştir.

Fenotipik olarak CD3⁻CD16⁺CD56⁺ olan NK hücreleri, doğal immün sistem için kritik olan sitotoksik lenfositlerin bir türüdür ve viral enfeksiyonu kontrol etmek için TNF- α ve IFN- γ salgılar ¹⁷². Dabrowski ve arkadaşları, hafif pankreatit ve kontrol grubuna kıyasla şiddetli AP'de periferik NK hücrelerinde dramatik bir azalma bulmuşlardır ve bu da NK hücreleri ile AP'nin şiddeti arasında bir korelasyon olabileceğini göstermektedir ¹⁶⁹. Bir başka çalışmada başvuru sırasında daha az sayıda NK hücresinin AP hastalarında ikincil enfeksiyon gelişimi ile ilişkili olduğunu bildirmektedir ¹⁷². Bizim çalışmamızda NK oranının literatürle uyumlu olarak AP gelişen hastalarda azalma eğiliminde olduğu, şiddetli AP de ise en az seviyede olduğu gözlenmektedir.

Programlı hücre ölümü proteini 1 (PD-1), PD-L1 fizyolojik olarak kontrolsüz immün cevabın kontrol altına alınması ve otoimmün toleransın devamının sağlanmasında önemli rol oynamaktadırlar. Bu immün kontrol noktaları tümörlerin immün sistemden kaçmasında ve immün sistemin cevabının baskılanmasında da rol almaktadırlar. İmmün

kontrol noktaları genellikle tümörlerle birlikte anılsa da inflamasyon ve sepsiste de önemli rol oynamaktadırlar. Sepsis sırasında PD-1, PD-L1, sitotoksik T lenfosit antijen-4 (CTLA-4) dahil olmak üzere birçok immün kontrol noktası reseptörünün immün sistem hücrelerinde arttığı ve immün sistem hücrelerinin işlev bozukluğu nedenleri arasında üst sıralarda yer aldığı düşünülmektedir ¹⁷³. İmmün kontrol noktaları ile pankreas hastalıkları arasında yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu PD-1 ve PDL-1 inhibitörlerinin pankreas kanseri üzerine etkilerini değerlendirmektedir. Literatürde PD-1 ve PDL-1 inhibitörlerinin kullanıldığı immünoterapilere bağlı olarak ciddi akut pankreatit gelişebileceği bildirilmektedir ¹⁷⁴. Literatür taramamızda akut pankreatit hastalarında T hücreler ve monositler üzerinde PD-1 ve PDL-1 ekspresyonunu değerlendiren sadece bir adet çalışmaya rastladık. Bu çalışmada AP hastalarında CD4⁺ lenfositler üzerinde PD-1, CD14⁺ monositler üzerinde PD-L1 oranları değerlendirilmiş ve kontrol grubuna göre her iki parametrenin de AP hastalarında yükseldiği bulunmuştur. Fakat bu çalışmada sadece bilier değil tüm sebeplere bağlı gelişen akut pankreatit hastaları çalışmaya dahil edilmiş ve pankreatit evrelerine göre PD-1, PDL-1 düzeyleri değerlendirilmemiştir ¹⁷. Akut pankreatit hastalarında enfeksiyöz komplikasyonlar gelişimiyle soluble PD-1 ve PD-L1 düzeyini değerlendiren literatürdeki tek çalışmada hem akut pankreatit olan hastalarda sağlıklı gönüllülere göre hem de enfeksiyöz komplikasyonlar olan hastalarda, enfeksiyöz komplikasyonu olmayanlara göre daha yüksek soluble PD-1 düzeyleri saptanmıştır ¹⁷⁵. İmmün kontrol noktalarının seviyelerinin yükselmesi ile immünsupresyon ve sepsis arasındaki ilişki de göz önüne alındığında akut pankreatit şiddetinin artması ile kandaki immün kontrol noktalarında gözlenen yükseklik arasında ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda sadece bilier sebepli pankreatitler değerlendirilmiş olup, hem CD4⁺ T lenfositler, hem de CD8⁺ T lenfositler üzerinde PD-1 pozitifliği, CD14⁺ monositler üzerinde PDL-1 pozitifliğinin pankreatit şiddeti ile birlikte arttığı görülmektedir.

Farklı lenfosit alt kümelerinin belirgin aktivasyonu, dolaşımdaki lenfositlerin sayılarındaki önemli azalmaya rağmen periferik kanda farklı sitokinlerde neden güçlü yükselmeler gözlemlediğimizi açıklayabilir. Sadece şiddetli AP'nin değil, aynı zamanda ciddi yanıklar, kazaya bağlı travma, büyük cerrahi müdahaleler veya sepsis gibi travmatik olayların neden olduğu doku hasarı, hasarın ciddiyeti (hasar yükü), genetik faktörler (gen polimorfizmi), konakçının genel durumu ve antijenlerin tipi (antijenik yük),

proinflatuvar sitokinlerin ve fosfolipitlerin hem lokal hem de sistemik salımı indükler 176-178.

Yoğun bir proinflatuvar yanıt, SIRS'nin klinik belirtilerine ve MODS veya MOF ile ifade edilen ve immün sistem yetmezliğine yol açan olaya sebep olur. Sistemik proinflatuvar yanıt sendromu fazı sırasında gözlenen TNF alfa, IL-1 ve IL-6 gibi proinflatuvar faktörlerin artışı, IFN- γ 'nın azalması ve IL-10 ve transforming growth factor- β gibi antiinflatuvar sitokinlerde artışı içeren ikinci bir yanıt izleyebilir. Bu karşı düzenleyici olaylara, telafi edici antiinflatuvar yanıt sendromu (CARS-Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome) olarak adlandırılır ¹⁷⁸.

Akut pankreatitte IL-1 yüksekliği bildirilmiştir ve çok sayıda raporda IL-1 ve IL-1 reseptörünün pankreas patogenezindeki rolüne işaret etmiştir ¹⁷⁹⁻¹⁸². İlginç bir şekilde, IL-1 reseptör geni eksikliği olan farelerde veya IL-1 reseptör antagonisti ile tedavinin farelerde serulein ile indüklenen kronik pankreatiti hafiflettiği gösterilmiştir ¹⁸¹. IL-1 dönüştürücü enzim (ICE), IL-1 β 'nin pro-IL-1 β 'dan salgılanmasından sorumludur ve deneysel pankreatit modelinde, ICE inaktivatörünün pankreatitin histolojik derecelendirmesi ve ölüm oranlarını azalttığı gösterilmiştir ¹⁸³. İlâveten, IL-1 β 'nın pankreatit patogenezinde de bir rol oynadığına inanılmaktadır. IL-1 β serum seviyesinin yükselmesi, akut pankreatit gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Yakın zamanda Xu ve arkadaşları, IL-1 β 'nin tripsin aktivasyonunu indükleyebildiğini ve pankreas asiner hücrelerinin hücre sel canlılığını azalttığını ortaya koymuşlardır ¹⁸⁴. Bizim çalışmamızda da AP hastalarında IL-1 β seviyeleri kontrol grubuna göre her ne kadar anlamlı olmasa da yüksek bulunmuş olup, şiddetli AP olan hastalarda diğer gruplara göre daha yüksek olmasına rağmen yine anlamlı farklılık saptanmamıştır.

IL-6, bazı hastanelerde ciddi hastalık geliştirme riski taşıyan hastaları seçmek için kullanılmaktadır ¹⁸⁵. Çok sayıda çalışmada, komplike AP ataklarında artmış serum seviyeleri bildirmiştir, ancak çalışmalar arasında değerlerde büyük farklılıklar göstermektedir. Yakın zamanda yayınlanan bir metaanalizde yazarlar, AP hastalarında başvuru gününde IL-6 seviyelerinin % 91 duyarlılık ve % 79 özgüllük gösterdiğini bildirmişlerdir ¹⁸⁶. Bu, birinci günde % 83,6 duyarlılık ve % 75,6 özgüllük gösteren daha önce yayınlanmış bir metaanalizde bildirilen sayılardan biraz daha yüksektir ¹⁸⁷. Başka bir deyişle, hastaneye yatışta yüksek IL-6 seviyelerine sahip bir hastanın ciddi hastalık geliştirme olasılığı 13,5 kat daha fazladır. Araştırmacılar IL-6 konusunda hevesli

olsalarda, metaanalizler, şiddetli AP'in erken tespiti için ideal tek aday olarak kabul edilmesi gerekir gerekmediğine dair bazı şüpheler duymaktadırlar.

IL-8, IL-6 ile karşılaştırılabilir profile sahip bir sitokindir. Hastalık şiddetinin erken parametrelerinden biri olarak tanımlanmıştır ve serum seviyesi semptomların başlamasından sonraki ilk gün içinde zirveye ulaşır. Birkaç gün sonra, septik MODS ortaya çıkmadıkça hızla azalır ¹⁸⁸. Bu gerçek, bu parametreyi sadece hastalık şiddeti değerlendirmesi için değil, aynı zamanda bu yaşamı tehdit eden durumun izlenmesi için de ilginç bir aday haline getirmektedir. Zhang ve arkadaşlarının ¹⁸⁶ 2014 yılında yayınladığı bir meta-analizde, bu parametrenin AP şiddetini değerlendirmedeki yeri araştırılmıştır. Metaanalize dahil edilen çalışmalar, duyarlılık ve özgüllük için çok çeşitli rakamlar bildirmektedir, ancak sonuçlar genel olarak IL-8'in, IL-6'dan daha az kullanılabilir olduğunu göstermiştir. Aoun ve arkadaşlar tarafından 2009'da yapılan ve nispeten küçük ölçekli beş çalışmayı içeren başka bir metaanalizde, IL-8 in pankreatit şiddetini öngörmeye birinci günde % 65,8 duyarlılık ve % 66,5 özgüllük değerine sahip olduğu bildirilmiştir. Bir sonraki metaanalizde ise, IL-6'nın yanı sıra IL-8'in pankreatitin 2. gününde APACHE II'den daha iyi performans gösterebileceği sonucuna varılmıştır ¹⁸⁷. Çalışmamızda hem IL-6 hem de IL-8 seviyeleri AP hastalarında kontrole göre yüksek bulunmuş olup, pankreatit şiddeti ile doğru orantılı olarak yükseldiği gözlenmiştir.

TNF- α , inflamasyonun proksimal bir aracısı olarak işlev görür ve hasarlı pankreas hücrelerinden ve birçok tipteki immün sistem hücrelerinden salınır. IL-6 ve IL-8 dahil diğer sitokinler, TNF- α 'ya doğrudan bir etki olarak salınır ¹⁸⁹. Çalışmaların çoğu, yüksek serum TNF- α seviyelerini daha yüksek AP şiddeti ile ilişkilendirmiştir ¹⁹⁰⁻¹⁹². TNF- α , semptom başlangıcından sonraki 24 saat içinde hafif ve şiddetli pankreatiti ayırt etme yeteneğini defalarca göstermiştir. Ancak IL-6 ile doğrudan karşılaştırıldığında TNF- α daha zayıf bir faktör olarak gösterilmektedir ^{191, 193}. Bu çalışmalardan farklı olarak Surbatovic ve Radakovic, TNF- α düzeylerinin, MODS'suz şiddetli AP hastalarına kıyasla şiddetli AP kaynaklı MODS hastalarında daha düşük ve ölen hastalarda hayatta kalanlara göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Düşük TNF- α seviyeleri, bu çalışmaya göre daha kötü sonuçlarda ilişkilendirilmiştir ¹⁹⁴. Taban tabana zıt bir çalışmada ise, Paaanen ve arkadaşları periferik kan TNF- α konsantrasyonunun AP'nin ciddiyetini değerlendirmede klinik bir değeri olmadığı sonucuna varmıştır. ¹⁹⁵. Daha yakın zamanlarda Digalakis ve arkadaşları ayrıca hafif ve şiddetli vakalar arasında TNF- α

seviyelerinde anlamlı bir fark bulamamıştır ¹⁹⁶. Bizim çalışmamızda TNF- α seviyeleri sadece şiddetli AP olan hastalarda diğer gruplara göre yüksek saptanmış olmasına rağmen anlamlı farklılık yoktur. Buda AP olan hastalarda yüksek TNF- α seviyelerinin pankreatitin şiddetli seyredebileceği konusunda fikir verebileceğini ama normal ve düşük çıkmasının ise iyi veya kötü yorumlanamayacağını göstermektedir.

IL-18'in indüksiyonu otoimmünite, kutanöz ve alerjenle indüklenen alerjik yanıtlar gibi bir dizi bozuklukta tanımlanmıştır ¹⁹⁷. IL-18, IL-1 ailesi sitokinin bir üyesidir ve bazı özellikleri IL-1 β ile benzerlik göstererek, doğuştan gelen ve adaptif immün sisteminin çeşitli yönlerinde rol oynar ¹⁹⁸. Kanıtlar, IL-18'in akut ve kronik pankreatit hastalarının kanında arttığını göstermektedir ¹⁹⁹⁻²⁰¹. Dahası, sağlıklı kontrollere kıyasla akut pankreatitin hafif ve şiddetli formları sırasında daha yüksek serum IL-18 seviyesi de bildirilmiştir ²⁰². Ek olarak, yüksek IL-18 seviyesi, sıçanlarda taurokolik asit ve endotoksin ile indüklenen akut pankreatitte de bildirilmiştir ²⁰³. İlginç bir şekilde IL-18, IL-12 ile birlikte obez farelerde şiddetli akut pankreatite neden olmaktadır ²⁰⁴. IL-18'in pankreatitin akuttan kronik evrelere ilerlemesinde de önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir ¹⁹⁹. Genel olarak IL-18, akut pankreatitin seyri sırasında erken salınır gibi görünmektedir ve şiddetli pankreatitte ve bununla ilişkili fibrozisde inflamatuvar tepkinin anahtar bir immünomodülatörü olarak hareket edebilir. Bizim çalışmamızda da organ yetmezliği gelişen orta ve şiddetli pankreatit hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulunmuş olup, organ yetmezliği gelişimi açısından önemli bir marker olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

IL-1 sitokinin süper ailesinin yeni bir üyesi olan IL-33, ST2L / IL1 reseptör yardımcı proteininin fonksiyonuna aracılık eden bir komplekse bağlanır ¹⁷⁸. Çeşitli araştırmalar, kronik pankreatit ve muhtemelen pankreas kanseri patogeneğinde IL-33'ün önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir ^{205, 206}. IL-33'ün farelerde asiner hücre proinflamatuvar yollarını aktive ettiği ve akut pankreas inflamasyonunu şiddetlendirdiği bulunmuştur ²⁰⁷. Bununla birlikte, aktive pankreatik stelat hücreler (pankreasın ekzokrin bölgelerinde bulunan miyofibroblast benzeri hücreler olarak sınıflandırılır) çekirdeklerinde IL-33 eksprese eder ve bu hücrelerde trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ile indüklenen proliferasyonu düzenler ²⁰⁸. IL-33 ayrıca bir pro-inflamatuvar sitokin olarak işlev görür ve insan pankreas karsinom hücrelerinde reseptör gen ekspresyonunu modüle eder ²⁰⁶. IL-33 ve reseptör kompleksi yeni bir sinyal sistemini

oluşturur; bu nedenle, bu yol, akut ve kronik pankreatitin meydana gelmesinde önemli olabilir. Ek olarak, pankreas miyofibroblastlarının uyarılması, proliferasyonu ve göçünde IL-33'ün rolü de bildirilmiştir ²⁰⁵. Bizim çalışmamızda IL-33 seviyeleri AP olan hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek olmakla birlikte şiddetli AP olan hastalarda en yüksek seviyededir. Fakat çalışmamız bu yüksekliğin AP gelişiminde mi rolü olduğunun ya da AP sonucunda mı oluştuğu sorusuna cevap verememektedir.

IL-10, monositler / makrofajlar, Treg ve Th hücreleri gibi bir dizi aktive edilmiş immün hücreler tarafından üretilir ^{209, 210}. IL-10 geni eksikliği olan fareler, akut pankreatit ve kronik pankreatit sırasında daha fazla inflamatuvar yanıt ve akciğer hasarı gözlenmiştir ^{211, 212}. IL-10 agonistinin bir tavşan pankreatit modelinde tedavi olarak kullanılması ile akciğer hasarı ve mortalitenin azaldığı bulunmuştur ²¹³. Plazma IL-10 seviyesinin pankreatitin şiddeti ile ilişkili olduğu ve şiddet tahmini için bir belirteç olarak kullanılabieceğine yönelik çalışmalar mevcuttur ^{214, 215}. Akut pankreatitin çeşitli kemirgen modellerine dayanan çalışmalarda, IL-10'un makrofajlardan inflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltarak, serum amilaz, serum lipaz, ödem, nekroz ve kanama düzeyini de azalttığı bildirilmektedir ²¹⁶⁻²¹⁸. Bununla birlikte, insan pankreatitinde rekombinant IL-10 tedavisi karışık yanıtlar vermiştir ¹⁹⁷.

Akut pankreatit hastalarında serum IL-10 seviyelerini değerlendiren bir çalışmada, pankreatitin ilk gününde serum IL-10 seviyeleri yükselmiş, sonraki günlerde giderek azalmıştır. Akut pankreatitin ilk gününde, hafif hastalığı olan hastaların serum IL-10 seviyeleri şiddetli hastalığı olanlara göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmış, fakat sonraki günlerde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ²¹⁹. Bizim çalışmamızda literatürle benzer şekilde IL10 seviyeleri pankreatit olan hastalarda kontrol grubuna göre artmaktadır. Organ yetmezliği gelişen hastalarda literatürde karışık sonuçlar olmakla birlikte çalışmamızda grup 2 ve grup 3 hastalar birlikte değerlendirildiğinde hafif pankreatit gelişen hastalara göre IL-10 seviyeleri daha yüksektir. Grup 3 hastalarda kalıcı organ yetmezliği ve SIRS bulgularının gözlenmesi ile IL-10 seviyeleri geçici organ yetmezliği olan hastalara göre düşme gözlenmektedir. Bu durum, immün sistem üstündeki baskılanmanın ortadan kalktığı ve tablonun daha da kötüleştiği bulgusunu desteklemektedir.

Akut pankreatit hastalarında periferik kan sitokinlerini değerlendiren bir çalışmada serum IL-2, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-5 ve IL-10 seviyeleri AP'in hem hafif hem

de ağır formunda da önemli ölçüde artmıştır ve en yüksek değerler şiddetli AP'de bulunmuştur. Bu sitokinlerden Th2 hücreleri tarafından üretildiği bilinen IL-4, IL-5 ve IL-10'deki yükselmenin büyüklüğü, Th1 hücreleri tarafından üretilen IL-2 ve IFN- γ 'dan çok daha yüksek olarak saptanmıştır. Bu bulgu, AP sırasında, CD4⁺ hücrelerinin Th1 alt popülasyonunun Th2'den daha güçlü bir şekilde bastırıldığını göstermektedir. Bu bulgu AP hastalarında Th1'den Th2'ye geçişin sonucu olabileceğini düşündürmektedir ¹⁵³.

Genel olarak çalışmamızın sitokin sonuçları değerlendirildiğinde IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-33 seviyeleri AP hastalarında anlamlı oranda yüksek olduğu Th1 tarafından salgılanan IFN- γ ve TNF- α 'da farklılık saptanmaması, Th2 tarafından da salgılanan IL-10'un AP hastalarında artmasının Th2 yönünde bir değişimi desteklemesi yanında Th2 ye ait diğer sitokinlerin çalışmamızda değerlendirilmemiş olması sebebiyle kesin bir yargıya varılamamaktadır. Ayrıca CD3⁻ hücrelerin artıp NK hücrelerinin ise azalması B lenfositlerin oranının arttığını düşündürmekte olup artmış IL-6 ve IL-10 seviyeleri B hücre artışına bağlı olarak yorumlanabilmektedir. Ayrıca “intermediate” monositlerin de IL-10 kaynağı olarak görev yaptığıyla ilgili yayınlar mevcuttur.

Sonuç olarak çalışmamız literatürde AP ile ilgili geniş hücre alttipi ve sitokini birlikte değerlendiren, aynı zamanda immün kontrol noktalarının durumu hakkında da fikir veren literatürdeki nadir çalışmalardan biridir. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak pankreatit hastalarında lenfosit, CD4⁺ lenfosit, CD14⁺ hücreler üzerindeki HLA-DR, NK hücrelerinde değişimler gözlenmekte olup, monosit altgrupları literatürle tam ters olarak bulunmuştur. NK gibi sitotoksik hücrelerin azaldığı ağır pankreatit hastalarında özellikle fagositik özellikleri olan klasik monositlerin de azalması olası gözükmemektedir. Hem CD4, CD8 hücreleri üzerinde PD-1 ve CD14 hücreler üzerindeki PDL-1 literatürdeki tek çalışma ile uyumlu olarak yükselmektedir. Sepsis gibi organ yetmezliği ile giden durumlarda da çalışmamızdaki gibi bu immün kontrol noktalarında artma gözlenmekte olup, bu immün kontrol noktalarının immün sistemin baskılanması ve organ yetmezliği ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın kısıtlamaları olarak;

- Hasta sayısının az olması,

- Sadece hastaların hastaneye başvuru anında immünofenotipleme ve sitokin profiline bakılmış olması, tedavi sırasında günlük hücre ve sitokin değişimlerinin yansıtılamamış olması,

- Daha fazla T hücre alt tipinin çalışmaya dahil edilememiş olması,
- Th2'ye ait sitokinlerin bakılamaması olarak sıralanabilir.



KAYNAKLAR

1. Swaroop VS, Chari ST, Clain JE. Severe acute pancreatitis. *JAMA*. Jun 16 2004;291(23):2865-8. doi:10.1001/jama.291.23.2865
2. Clancy TE, Benoit EP, Ashley SW. Current management of acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg*. Mar 2005;9(3):440-52. doi:10.1016/j.gassur.2004.09.027
3. Yadav D, Agarwal N, Pitchumoni CS. A critical evaluation of laboratory tests in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. Jun 2002;97(6):1309-18. doi:10.1111/j.1572-0241.2002.05766.x
4. Pandol SJ, Saluja AK, Imrie CW, Banks PA. Acute pancreatitis: bench to the bedside. *Gastroenterology*. Mar 2007;132(3):1127-51. doi:10.1053/j.gastro.2007.01.055
5. Hirota M, Takada T, Kawarada Y, et al. JPN Guidelines for the management of acute pancreatitis: severity assessment of acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2006;13(1):33-41. doi:10.1007/s00534-005-1049-1
6. Ranson JH. Etiological and prognostic factors in human acute pancreatitis: a review. *Am J Gastroenterol*. Sep 1982;77(9):633-8.
7. Otsuki M, Koizumi M, Ito T, Shimosegawa T. Aggravation factors and fatality rates of acute pancreatitis-analysis of a nationwide survey of acute pancreatitis in Japan. In: Berhardt L, ed. *Medicine and Biology*. Nova Science Publishers; 2013:147-160.
8. Kong L, Santiago N, Han TQ, Zhang SD. Clinical characteristics and prognostic factors of severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. Nov 15 2004;10(22):3336-8. doi:10.3748/wjg.v10.i22.3336
9. Turkoglu A, Boyuk A, Tanriverdi MH, et al. The potential role of BMI, plasma leptin, nesfatin-1 and ghrelin levels in the early detection of pancreatic necrosis and severe acute pancreatitis: a prospective cohort study. *Int J Surg*. Dec 2014;12(12):1310-3. doi:10.1016/j.ijsu.2014.10.040
10. Robert JH, Frossard JL, Mermillod B, et al. Early prediction of acute pancreatitis: prospective study comparing computed tomography scans, Ranson, Glasgow, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II scores, and various serum markers. *World J Surg*. May 2002;26(5):612-9. doi:10.1007/s00268-001-0278-y
11. Yadav J, Yadav SK, Kumar S, et al. Predicting morbidity and mortality in acute pancreatitis in an Indian population: a comparative study of the BISAP score, Ranson's score and CT severity index. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. Aug 2016;4(3):216-20. doi:10.1093/gastro/gov009
12. Singh VK, Wu BU, Bollen TL, et al. A prospective evaluation of the bedside index for severity in acute pancreatitis score in assessing mortality and intermediate markers of severity in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. Apr 2009;104(4):966-71. doi:10.1038/ajg.2009.28
13. Bougard M, Barbier L, Godart B, Le Bayon-Breard AG, Marques F, Salame E. Management of biliary acute pancreatitis. *J Visc Surg*. Apr 2019;156(2):113-125. doi:10.1016/j.jvisurg.2018.08.002
14. McKinnon KM. Flow Cytometry: An Overview. *Curr Protoc Immunol*. Feb 21 2018;120:5.1.1-5.1.11. doi:10.1002/cpim.40

15. Yang Z, Zhang Y, Dong L, et al. The Reduction of Peripheral Blood CD4+ T Cell Indicates Persistent Organ Failure in Acute Pancreatitis. *PLoS One*. 2015;10(5):e0125529. doi:10.1371/journal.pone.0125529
16. Minkov GA, Yovtchev YP, Halacheva KS. Increased Circulating CD4+CD25+CD127low/neg Regulatory T-cells as a Prognostic Biomarker in Acute Pancreatitis. *Pancreas*. Sep 2017;46(8):1003-1010. doi:10.1097/mpa.0000000000000894
17. Pan T, Zhou T, Li L, et al. Monocyte programmed death ligand-1 expression is an early marker for predicting infectious complications in acute pancreatitis. *Crit Care*. Jul 14 2017;21(1):186. doi:10.1186/s13054-017-1781-3
18. Zhulai GA, Oleinik EK, Ostrovskii KA, Oleinik VM, Kravchenko PN, Churov AV. [Alterations of lymphocyte subsets and indicators of immune suppression in patients with acute pancreatitis]. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2014;(9):21-5.
19. Yeo CJ, Cameron JL. The pancreas. In: Sabiston DC, ed. *Textbook of Surgery 15th edition*. W.B. Saunders; 1997:1156-1165.
20. Ranson HJL. Acute Pancreatitis. In: Zinner MJ, Schwartz SI, Ellis H, eds. *Maingot's Abdominal Operations 10th edition*. Appleton & Lange; 1997:1899-1905.
21. Hilal Ü. Akut Pankreatit. In: Minkari T, Ünal G, Kafadar Y, eds. *Pankreas Cerrahisi*. Logos; 1991:119-137.
22. Bradley EL, 3rd. Indications for surgery in necrotizing pancreatitis--a millennial review. *JOP*. May 2000;1(1):1-3.
23. Postier RG. Past, present, and future of pancreatic surgery. *Am J Surg*. Dec 2001;182(6):547-51. doi:10.1016/s0002-9610(01)00815-7
24. Sanfey H, Bulkley GB, Cameron JL. The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ann Surg*. Oct 1984;200(4):405-13. doi:10.1097/00000658-198410000-00003
25. Bradley EL, 3rd. A clinically based classification system for acute pancreatitis. Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis, Atlanta, Ga, September 11 through 13, 1992. *Arch Surg*. May 1993;128(5):586-90. doi:10.1001/archsurg.1993.01420170122019
26. Junqueira LC, Carneiro J. Sindirim Kanalına Bağlı Bezler. In: Junqueira LC, Carneiro J, eds. *Temel Histoloji*. 10 ed. Nobel Tıp Yayınları; 2006:328-331.
27. Guyton AC. *Tıbbi Fizyoloji*. 12 ed. Elsevier Limited; 2011:780-783.
28. Skandalakis JE, Colbord GL, Weidman TA, et al. Pankreas. In: Skandalakis JE, Colbord GL, Weidman TA, et al, eds. *Skandalakis Cerrahi Anatomi - Modern Cerrahinin Embriyolojik ve Anatomik Temelleri*. Palme Yayınevi; 2008:1163-1183:chap 21.
29. McHenry CR, Strain JW. Anatomy and Embryology of the pancreas. In: Clark OH, ed. *Textbook of endocrine Surgery*. Saunders; 1997:549-555.
30. Guyton AC. *Tıbbi Fizyoloji*. 12 ed. Elsevier Limited; 2011:939-940.
31. Wong EC, Butch AW, Rosenblum JL. The clinical chemistry laboratory and acute pancreatitis. *Clin Chem*. Feb 1993;39(2):234-43.
32. Formela LJ, Galloway SW, Kingsnorth AN. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *Br J Surg*. Jan 1995;82(1):6-13. doi:10.1002/bjs.1800820105

33. Mofidi R, Duff MD, Wigmore SJ, Madhavan KK, Garden OJ, Parks RW. Association between early systemic inflammatory response, severity of multiorgan dysfunction and death in acute pancreatitis. *Br J Surg*. Jun 2006;93(6):738-44. doi:10.1002/bjs.5290
34. Banks PA, Freeman ML. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. Oct 2006;101(10):2379-400. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.00856.x
35. Johnson CD, Abu-Hilal M. Persistent organ failure during the first week as a marker of fatal outcome in acute pancreatitis. *Gut*. Sep 2004;53(9):1340-4. doi:10.1136/gut.2004.039883
36. Toouli J, Brooke-Smith M, Bassi C, et al. Guidelines for the management of acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. Feb 2002;17 Suppl:S15-39. doi:10.1046/j.1440-1746.17.s1.2.x
37. Yadav D, Vege SS, Chari ST. Pancreatitis. In: Talley NJ, Locke GR, Saito YA, eds. *GI Epidemiology*. 2 ed. Blackwell Publishing; 2014:306-313.
38. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology*. 10 ed. 2018:679-689.
39. Mooren F, Hlouschek V, Finkes T, et al. Early changes in pancreatic acinar cell calcium signaling after pancreatic duct obstruction. *J Biol Chem*. Mar 14 2003;278(11):9361-9. doi:10.1074/jbc.M207454200
40. Rünzi M, Layer P. Drug-associated pancreatitis: facts and fiction. *Pancreas*. Jul 1996;13(1):100-9. doi:10.1097/00006676-199607000-00014
41. Balachandra S, Virlos IT, King NK, Siriwardana HP, France MW, Siriwardana AK. Hyperlipidaemia and outcome in acute pancreatitis. *Int J Clin Pract*. Feb 2006;60(2):156-9. doi:10.1111/j.1742-1241.2005.00645.x
42. Klöppel G, Maillet B. Pathology of acute and chronic pancreatitis. *Pancreas*. Nov 1993;8(6):659-70. doi:10.1097/00006676-199311000-00001
43. Bouwense SAW, Gooszen HG, van Santvoort HC, M.G.H. B. Acute Pancreatitis. In: Yeo CJ, ed. *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract*. 8 ed. Elsevier; 2019:1076-1077:chap 91.
44. Brady M, Christmas S, Sutton R, Neoptolemos J, Slavin J. Cytokines and acute pancreatitis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol*. Jul 1999;13(2):265-89. doi:10.1053/bega.1999.0024
45. Frossard JL, Hadengue A, Pastor CM. New serum markers for the detection of severe acute pancreatitis in humans. *Am J Respir Crit Care Med*. Jul 1 2001;164(1):162-70. doi:10.1164/ajrccm.164.1.2008026
46. Yamauchi J, Shibuya K, Sunamura M, et al. Cytokine modulation in acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2001;8(3):195-203. doi:10.1007/s005340170016
47. Sweiry JH, Mann GE. Role of oxidative stress in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1996;219:10-5. doi:10.3109/00365529609104992
48. Werth B, Kuhn M, Hartmann K, Reinhart WH. [Drug-induced pancreatitis: experience of the Swiss Drug Adverse Effects Center (SANZ) 1981-1993]. *Schweiz Med Wochenschr*. Apr 15 1995;125(15):731-4. Medikamentös induzierte Pankreatitiden: Erfahrungen der Schweizerischen Arzneimittel-Nebenwirkungszentrale (SANZ) 1981-1993.
49. Thompson JS, Bragg LE, Hodgson PE, Rikkers LF. Postoperative pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet*. Nov 1988;167(5):377-80.
50. Carroll JK, Herrick B, Gipson T, Lee SP. Acute pancreatitis: diagnosis, prognosis, and treatment. *Am Fam Physician*. May 15 2007;75(10):1513-20.

51. Hirota M, Kimura Y, Ishiko T, Beppu T, Yamashita Y, Ogawa M. Visualization of the heterogeneous internal structure of so-called "pancreatic necrosis" by magnetic resonance imaging in acute necrotizing pancreatitis. *Pancreas*. Jul 2002;25(1):63-7. doi:10.1097/00006676-200207000-00015
52. Lecesne R, Taourel P, Bret PM, Atri M, Reinhold C. Acute pancreatitis: interobserver agreement and correlation of CT and MR cholangiopancreatography with outcome. *Radiology*. Jun 1999;211(3):727-35. doi:10.1148/radiology.211.3.r99jn08727
53. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. Oct 1985;13(10):818-29.
54. Uyanıkoğlu A. Akut pankreatit. *Güncel Gastroenteroloji*. 2019;23(3):118-125.
55. Warndorf MG, Kurtzman JT, Bartel MJ, et al. Early fluid resuscitation reduces morbidity among patients with acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Aug 2011;9(8):705-9. doi:10.1016/j.cgh.2011.03.032
56. Ranson JH, Rifkind KM, Roses DF, Fink SD, Eng K, Spencer FC. Prognostic signs and the role of operative management in acute pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet*. Jul 1974;139(1):69-81.
57. Blamey SL, Imrie CW, O'Neill J, Gilmour WH, Carter DC. Prognostic factors in acute pancreatitis. *Gut*. Dec 1984;25(12):1340-6. doi:10.1136/gut.25.12.1340
58. Wilson C, Heads A, Shenkin A, Imrie CW. C-reactive protein, antiproteases and complement factors as objective markers of severity in acute pancreatitis. *Br J Surg*. Feb 1989;76(2):177-81. doi:10.1002/bjs.1800760224
59. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, et al. Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut*. Jan 2013;62(1):102-11. doi:10.1136/gutjnl-2012-302779
60. Balthazar EJ, Robinson DL, Megibow AJ, Ranson JH. Acute pancreatitis: value of CT in establishing prognosis. *Radiology*. Feb 1990;174(2):331-6. doi:10.1148/radiology.174.2.2296641
61. Muddana V, Whitcomb DC, Khalid A, Slivka A, Papachristou GI. Elevated serum creatinine as a marker of pancreatic necrosis in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. Jan 2009;104(1):164-70. doi:10.1038/ajg.2008.66
62. Lankisch PG, Weber-Dany B, Maisonneuve P, Lowenfels AB. High serum creatinine in acute pancreatitis: a marker for pancreatic necrosis? *Am J Gastroenterol*. May 2010;105(5):1196-200. doi:10.1038/ajg.2009.688
63. Forsmark CE, Baillie J. AGA Institute technical review on acute pancreatitis. *Gastroenterology*. May 2007;132(5):2022-44. doi:10.1053/j.gastro.2007.03.065
64. Papachristou GI, Whitcomb DC. Predictors of severity and necrosis in acute pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am*. Dec 2004;33(4):871-90. doi:10.1016/j.gtc.2004.07.004
65. Blum T, Maisonneuve P, Lowenfels AB, Lankisch PG. Fatal outcome in acute pancreatitis: its occurrence and early prediction. *Pancreatology*. 2001;1(3):237-41. doi:10.1159/000055817
66. Buddingh KT, Koudstaal LG, van Santvoort HC, et al. Early angiopoietin-2 levels after onset predict the advent of severe pancreatitis, multiple organ failure, and infectious

complications in patients with acute pancreatitis. *J Am Coll Surg*. Jan 2014;218(1):26-32. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2013.09.021

67. Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clin Exp Immunol*. Feb 2007;147(2):227-35. doi:10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x

68. Pahwa R, Goyal A, Bansal P, Jialal I. Chronic Inflammation. *StatPearls*. StatPearls Publishing

Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.

69. Germolec DR, Shipkowski KA, Frawley RP, Evans E. Markers of Inflammation. *Methods Mol Biol*. 2018;1803:57-79. doi:10.1007/978-1-4939-8549-4_5

70. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. Jul 24 2008;454(7203):428-35. doi:10.1038/nature07201

71. Varela ML, Mogildea M, Moreno I, Lopes A. Acute Inflammation and Metabolism. *Inflammation*. Aug 2018;41(4):1115-1127. doi:10.1007/s10753-018-0739-1

72. Medzhitov R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*. Mar 19 2010;140(6):771-6. doi:10.1016/j.cell.2010.03.006

73. Mills KH. TLR-dependent T cell activation in autoimmunity. *Nat Rev Immunol*. Nov 18 2011;11(12):807-22. doi:10.1038/nri3095

74. Gando S. Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med*. Feb 2010;38(2 Suppl):S35-42. doi:10.1097/CCM.0b013e3181c9e31d

75. Eltzschig HK, Carmeliet P. Hypoxia and inflammation. *N Engl J Med*. Feb 17 2011;364(7):656-65. doi:10.1056/NEJMra0910283

76. Alegre J, Jufresa J, Segura R, et al. Pleural-fluid myeloperoxidase in complicated and noncomplicated parapneumonic pleural effusions. *Eur Respir J*. Feb 2002;19(2):320-5. doi:10.1183/09031936.02.00051802

77. Zimmermann N, Hershey GK, Foster PS, Rothenberg ME. Chemokines in asthma: cooperative interaction between chemokines and IL-13. *J Allergy Clin Immunol*. Feb 2003;111(2):227-42; quiz 243. doi:10.1067/mai.2003.139

78. González-Villalva A, Fortoul TI, Avila-Costa MR, et al. Thrombocytosis induced in mice after subacute and subchronic V2O5 inhalation. *Toxicol Ind Health*. Apr 2006;22(3):113-6. doi:10.1191/0748233706th250oa

79. Sonnenberg GF, Artis D. Innate lymphoid cells in the initiation, regulation and resolution of inflammation. *Nat Med*. Jul 2015;21(7):698-708. doi:10.1038/nm.3892

80. Everds NE, Snyder PW, Bailey KL, et al. Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a review of the biology, impact, and assessment. *Toxicol Pathol*. 2013;41(4):560-614. doi:10.1177/0192623312466452

81. Griffiths HR, Gao D, Pararasa C. Redox regulation in metabolic programming and inflammation. *Redox Biol*. Aug 2017;12:50-57. doi:10.1016/j.redox.2017.01.023

82. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal*. Mar 1 2014;20(7):1126-67. doi:10.1089/ars.2012.5149

83. Atsumi T, Cho YR, Leng L, et al. The proinflammatory cytokine macrophage migration inhibitory factor regulates glucose metabolism during systemic inflammation. *J Immunol*. Oct 15 2007;179(8):5399-406. doi:10.4049/jimmunol.179.8.5399
84. Bach E, Nielsen RR, Vendelbo MH, et al. Direct effects of TNF- α on local fuel metabolism and cytokine levels in the placebo-controlled, bilaterally infused human leg: increased insulin sensitivity, increased net protein breakdown, and increased IL-6 release. *Diabetes*. Dec 2013;62(12):4023-9. doi:10.2337/db13-0138
85. Angiari S. Selectin-mediated leukocyte trafficking during the development of autoimmune disease. *Autoimmun Rev*. Nov 2015;14(11):984-95. doi:10.1016/j.autrev.2015.06.006
86. Kelly M, Hwang JM, Kubes P. Modulating leukocyte recruitment in inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. Jul 2007;120(1):3-10. doi:10.1016/j.jaci.2007.05.017
87. Schmidt S, Moser M, Sperandio M. The molecular basis of leukocyte recruitment and its deficiencies. *Mol Immunol*. Aug 2013;55(1):49-58. doi:10.1016/j.molimm.2012.11.006
88. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta*. Nov 2014;1843(11):2563-2582. doi:10.1016/j.bbamcr.2014.05.014
89. Chaplin DD. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*. Feb 2010;125(2 Suppl 2):S3-23. doi:10.1016/j.jaci.2009.12.980
90. Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev*. Aug-Oct 2002;13(4-5):413-21. doi:10.1016/s1359-6101(02)00026-6
91. Akdis M, Aab A, Altunbulakli C, et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β , and TNF- α : Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol*. Oct 2016;138(4):984-1010. doi:10.1016/j.jaci.2016.06.033
92. Norris CA, He M, Kang LI, et al. Synthesis of IL-6 by hepatocytes is a normal response to common hepatic stimuli. *PLoS One*. 2014;9(4):e96053. doi:10.1371/journal.pone.0096053
93. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:519-50. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132612
94. Bashir MM, Sharma MR, Werth VP. TNF-alpha production in the skin. *Arch Dermatol Res*. Jan 2009;301(1):87-91. doi:10.1007/s00403-008-0893-7
95. Sarada S, Himadri P, Mishra C, Geetali P, Ram MS, Ilavazhagan G. Role of oxidative stress and NFkB in hypoxia-induced pulmonary edema. *Exp Biol Med (Maywood)*. Sep 2008;233(9):1088-98. doi:10.3181/0712-rm-337
96. Schmid H, Boucherot A, Yasuda Y, et al. Modular activation of nuclear factor-kappaB transcriptional programs in human diabetic nephropathy. *Diabetes*. Nov 2006;55(11):2993-3003. doi:10.2337/db06-0477
97. Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations (*). *Annu Rev Immunol*. 2010;28:445-89. doi:10.1146/annurev-immunol-030409-101212
98. Bachmann MF, Kopf M, Marsland BJ. Chemokines: more than just road signs. *Nat Rev Immunol*. Feb 2006;6(2):159-64. doi:10.1038/nri1776
99. Rot A, von Andrian UH. Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokines grammar for immune cells. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:891-928. doi:10.1146/annurev.immunol.22.012703.104543

100. Abbadie C. Chemokines, chemokine receptors and pain. *Trends Immunol.* Oct 2005;26(10):529-34. doi:10.1016/j.it.2005.08.001
101. Moser B, Wolf M, Walz A, Loetscher P. Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends Immunol.* Feb 2004;25(2):75-84. doi:10.1016/j.it.2003.12.005
102. Evans EW, Duncan JR. Proteins, lipids and carbohydrates. In: Latimer KS, Mahaffey EA, Prasse KW, eds. *Duncan & Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology*. 4 ed. Wiley-Blackwell; 2003:179-203.
103. Cray C, Zaias J, Altman NH. Acute phase response in animals: a review. *Comp Med.* Dec 2009;59(6):517-26.
104. Eckersall PD, Bell R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet J.* Jul 2010;185(1):23-7. doi:10.1016/j.tvjl.2010.04.009
105. Gentry PA. Acute phase proteins. In: Loeb WF, Quimby FW, eds. *The clinical chemistry of laboratory animals* 2ed. Taylor and Francis; 1999:336–398.
106. Kushner I, Rzewnicki D, Samols D. What does minor elevation of C-reactive protein signify? *Am J Med.* Feb 2006;119(2):166.e17-28. doi:10.1016/j.amjmed.2005.06.057
107. Acevedo M, Corbalán R, Braun S, Pereira J, Navarrete C, Gonzalez I. C-reactive protein and atrial fibrillation: "evidence for the presence of inflammation in the perpetuation of the arrhythmia". *Int J Cardiol.* Apr 14 2006;108(3):326-31. doi:10.1016/j.ijcard.2005.05.017
108. Corrado E, Rizzo M, Muratori I, Coppola G, Novo S. Association of elevated fibrinogen and C-reactive protein levels with carotid lesions in patients with newly diagnosed hypertension or type II diabetes. *Arch Med Res.* Nov 2006;37(8):1004-9. doi:10.1016/j.arcmed.2006.06.005
109. Folsom AR, Aleksic N, Catellier D, Juneja HS, Wu KK. C-reactive protein and incident coronary heart disease in the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Am Heart J.* Aug 2002;144(2):233-8. doi:10.1067/mhj.2002.124054
110. Nesto R. C-reactive protein, its role in inflammation, Type 2 diabetes and cardiovascular disease, and the effects of insulin-sensitizing treatment with thiazolidinediones. *Diabet Med.* Aug 2004;21(8):810-7. doi:10.1111/j.1464-5491.2004.01296.x
111. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Med.* Jan 2008;34(1):17-60. doi:10.1007/s00134-007-0934-2
112. Binkowska AM, Michalak G, Słotwiński R. Current views on the mechanisms of immune responses to trauma and infection. *Cent Eur J Immunol.* 2015;40(2):206-16. doi:10.5114/ceji.2015.52835
113. Kylänpää ML, Repo H, Puolakkainen PA. Inflammation and immunosuppression in severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol.* Jun 21 2010;16(23):2867-72. doi:10.3748/wjg.v16.i23.2867
114. Comstedt P, Storgaard M, Lassen AT. The Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in acutely hospitalised medical patients: a cohort study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* Dec 27 2009;17:67. doi:10.1186/1757-7241-17-67
115. El-Menyar A, Thani H, Zakaria E, et al. Multiple organ dysfunction syndrome (MODS): is it preventable or inevitable? *International Journal of Clinical Medicine* 2012;3(7):722–730.

116. Joannidis M, Druml W, Forni LG, et al. Prevention of acute kidney injury and protection of renal function in the intensive care unit: update 2017 : Expert opinion of the Working Group on Prevention, AKI section, European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* Jun 2017;43(6):730-749. doi:10.1007/s00134-017-4832-y
117. Post EH, Kellum JA, Bellomo R, Vincent JL. Renal perfusion in sepsis: from macro- to microcirculation. *Kidney Int.* Jan 2017;91(1):45-60. doi:10.1016/j.kint.2016.07.032
118. Moldavan A. PHOTO-ELECTRIC TECHNIQUE FOR THE COUNTING OF MICROSCOPICAL CELLS. *Science.* Aug 24 1934;80(2069):188-9. doi:10.1126/science.80.2069.188
119. Bierne T, Hutcheon JM. A photoelectric particle counter for use in the sieve range. *J Sci Instrum.* 1957;34:196–200.
120. Cornwall JB, Davison RM. Rapid counter for small particles in suspension. *J Sci Instrum* 1960;37:414.
121. Coulter WH. High speed automatic blood cell counter and analyzer. *Proc Natl Electron Conf* 1956;12:1034–1040.
122. Gucker FT, Jr., O'Konski CT, et al. A photoelectronic counter for colloidal particles. *J Am Chem Soc.* Oct 1947;69(10):2422-31. doi:10.1021/ja01202a053
123. Kamensky LA, Melamed MR. Spectrophotometric cell sorter. *Science.* Jun 9 1967;156(3780):1364-5. doi:10.1126/science.156.3780.1364
124. Kamensky LA, Melamed MR, Derman H. Spectrophotometer: new instrument for ultrarapid cell analysis. *Science.* Oct 29 1965;150(3696):630-1. doi:10.1126/science.150.3696.630
125. Fulwyler MJ. Electronic separation of biological cells by volume. *Science.* Nov 12 1965;150(3698):910-1. doi:10.1126/science.150.3698.910
126. Hulett HR, Bonner WA, Barrett J, Herzenberg LA. Cell sorting: automated separation of mammalian cells as a function of intracellular fluorescence. *Science.* Nov 7 1969;166(3906):747-9. doi:10.1126/science.166.3906.747
127. Van Dilla MA, Trujillo TT, Mullaney PF, Coulter JR. Cell microfluorometry: a method for rapid fluorescence measurement. *Science.* Mar 14 1969;163(3872):1213-4. doi:10.1126/science.163.3872.1213
128. Givan AL. Flow cytometry: an introduction. *Methods Mol Biol.* 2011;699:1-29. doi:10.1007/978-1-61737-950-5_1
129. Delude RL. Flow cytometry. *Crit Care Med.* Dec 2005;33(12 Suppl):S426-8. doi:10.1097/01.ccm.0000186781.07221.f8
130. Watanabe T, Kudo M, Strober W. Immünopathogenesis of pancreatitis. *Mucosal Immunol.* Mar 2017;10(2):283-298. doi:10.1038/mi.2016.101
131. Watanabe T, Minaga K, Kamata K, Kudo M, Strober W. Mechanistic Insights into Autoimmune Pancreatitis and IgG4-Related Disease. *Trends Immunol.* Nov 2018;39(11):874-889. doi:10.1016/j.it.2018.09.005
132. Sandler M, van den Brandt C, Glaubitz J, et al. NLRP3 Inflammasome Regulates Development of Systemic Inflammatory Response and Compensatory Anti-Inflammatory Response Syndromes in Mice With Acute Pancreatitis. *Gastroenterology.* Jan 2020;158(1):253-269.e14. doi:10.1053/j.gastro.2019.09.040

133. Gupte A, Goede D, Tuite R, Forsmark CE. Chronic pancreatitis. *Bmj*. Jun 7 2018;361:k2126. doi:10.1136/bmj.k2126
134. Peery AF, Crockett SD, Murphy CC, et al. Burden and Cost of Gastrointestinal, Liver, and Pancreatic Diseases in the United States: Update 2018. *Gastroenterology*. Jan 2019;156(1):254-272.e11. doi:10.1053/j.gastro.2018.08.063
135. Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, Rosenzweig AB, Fleshman JM, Matrisian LM. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res*. Jun 1 2014;74(11):2913-21. doi:10.1158/0008-5472.Can-14-0155
136. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin*. Jan-Feb 2015;65(1):5-29. doi:10.3322/caac.21254
137. Bhatia M, Brady M, Shokuhi S, Christmas S, Neoptolemos JP, Slavin J. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *J Pathol*. Feb 2000;190(2):117-25. doi:10.1002/(sici)1096-9896(200002)190:2<117::Aid-path494>3.0.Co;2-k
138. Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg*. Jan 1998;175(1):76-83. doi:10.1016/s0002-9610(97)00240-7
139. Ogawa M. Acute pancreatitis and cytokines: "second attack" by septic complication leads to organ failure. *Pancreas*. Apr 1998;16(3):312-5.
140. Curley PJ, McMahon MJ, Lancaster F, et al. Reduction in circulating levels of CD4-positive lymphocytes in acute pancreatitis: relationship to endotoxin, interleukin 6 and disease severity. *Br J Surg*. Oct 1993;80(10):1312-5. doi:10.1002/bjs.1800801031
141. Pezzilli R, Billi P, Beltrandi E, et al. Circulating lymphocyte subsets in human acute pancreatitis. *Pancreas*. Jul 1995;11(1):95-100. doi:10.1097/00006676-199507000-00010
142. Takeyama Y, Takas K, Ueda T, Hori Y, Goshima M, Kuroda Y. Peripheral lymphocyte reduction in severe acute pancreatitis is caused by apoptotic cell death. *J Gastrointest Surg*. Jul-Aug 2000;4(4):379-87. doi:10.1016/s1091-255x(00)80016-5
143. Widdison AL, Cunningham S. Immune function early in acute pancreatitis. *Br J Surg*. May 1996;83(5):633-6. doi:10.1002/bjs.1800830514
144. Blom B, Spits H. Development of human lymphoid cells. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:287-320. doi:10.1146/annurev.immunol.24.021605.090612
145. Xue J, Sharma V, Habtezion A. Immune cells and immune-based therapy in pancreatitis. *Immunol Res*. May 2014;58(2-3):378-86. doi:10.1007/s12026-014-8504-5
146. Shamooin M, Deng Y, Chen YQ, Bhatia M, Sun J. Therapeutic implications of innate immune system in acute pancreatitis. *Expert Opin Ther Targets*. 2016;20(1):73-87. doi:10.1517/14728222.2015.1077227
147. Zheng L, Xue J, Jaffee EM, Habtezion A. Role of immune cells and immune-based therapies in pancreatitis and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterology*. Jun 2013;144(6):1230-40. doi:10.1053/j.gastro.2012.12.042
148. Fernández-Fresnedo G, Ramos MA, González-Pardo MC, de Francisco AL, López-Hoyos M, Arias M. B lymphopenia in uremia is related to an accelerated in vitro apoptosis and dysregulation of Bcl-2. *Nephrol Dial Transplant*. Apr 2000;15(4):502-10. doi:10.1093/ndt/15.4.502

149. Litjens NH, van Druningen CJ, Betjes MG. Progressive loss of renal function is associated with activation and depletion of naive T lymphocytes. *Clin Immunol*. Jan 2006;118(1):83-91. doi:10.1016/j.clim.2005.09.007
150. Meier P, Dayer E, Blanc E, Wauters JP. Early T cell activation correlates with expression of apoptosis markers in patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. Jan 2002;13(1):204-12.
151. Chen CY, Lee CH, Liu CY, Wang JH, Wang LM, Perng RP. Clinical features and outcomes of severe acute respiratory syndrome and predictive factors for acute respiratory distress syndrome. *J Chin Med Assoc*. Jan 2005;68(1):4-10. doi:10.1016/s1726-4901(09)70124-8
152. Sun Q, Liu ZH, Chen J, et al. An aggressive systematic strategy for acute respiratory distress syndrome caused by severe pneumonia after renal transplantation. *Transpl Int*. Feb 2006;19(2):110-6. doi:10.1111/j.1432-2277.2005.00245.x
153. Pietruczuk M, Dabrowska MI, Wereszczynska-Siemiatkowska U, Dabrowski A. Alteration of peripheral blood lymphocyte subsets in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. Sep 7 2006;12(33):5344-51. doi:10.3748/wjg.v12.i33.5344
154. Qi X, Yang F, Huang H, et al. A reduced lymphocyte ratio as an early marker for predicting acute pancreatitis. *Sci Rep*. Mar 7 2017;7:44087. doi:10.1038/srep44087
155. Shen X, Sun J, Ke L, et al. Reduced lymphocyte count as an early marker for predicting infected pancreatic necrosis. *BMC Gastroenterol*. Oct 26 2015;15:147. doi:10.1186/s12876-015-0375-2
156. Shi C, Hou C, Zhu X, et al. New Predictor of Organ Failure in Acute Pancreatitis: CD4+ T Lymphocytes and CD19+ B Lymphocytes. *Biomed Res Int*. 2018;2018:1012584. doi:10.1155/2018/1012584
157. Mylona V, Koussoulas V, Tzivras D, et al. Changes in adaptive and innate immunity in patients with acute pancreatitis and systemic inflammatory response syndrome. *Pancreatol*. 2011;11(5):475-81. doi:10.1159/000329460
158. Liu Y, Wang L, Cai Z, et al. The Decrease of Peripheral Blood CD4+ T Cells Indicates Abdominal Compartment Syndrome in Severe Acute Pancreatitis. *PLoS One*. 2015;10(8):e0135768. doi:10.1371/journal.pone.0135768
159. Uehara S, Gothoh K, Handa H, Tomita H, Tomita Y. Immune function in patients with acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. Apr 2003;18(4):363-70. doi:10.1046/j.1440-1746.2003.02979.x
160. Zhao Z, Shen J, Zhang D, Shen J. The Prognostic Role of Peripheral Lymphocyte Subsets in Patients With Acute Pancreatitis. *Am J Med Sci*. Mar 2019;357(3):242-246. doi:10.1016/j.amjms.2018.12.008
161. Shen Y, Cui NQ. Clinical observation of immunity in patients with secondary infection from severe acute pancreatitis. *Inflamm Res*. Jul 2012;61(7):743-8. doi:10.1007/s00011-012-0467-1
162. Vogelzang A, McGuire HM, Liu SM, et al. IL-21 contributes to fatal inflammatory disease in the absence of Foxp3+ T regulatory cells. *J Immunol*. Feb 15 2014;192(4):1404-14. doi:10.4049/jimmunol.1302285
163. Fonteh P, Smith M, Brand M. Adaptive Immune Cell Dysregulation and Role in Acute Pancreatitis Disease Progression and Treatment. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. Jun 2018;66(3):199-209. doi:10.1007/s00005-017-0495-1

164. Cabrera-Perez J, Condotta SA, Badovinac VP, Griffith TS. Impact of sepsis on CD4 T cell immunity. *J Leukoc Biol.* Nov 2014;96(5):767-77. doi:10.1189/jlb.5MR0114-067R
165. Drewry AM, Ablordeppey EA, Murray ET, et al. Monocyte Function and Clinical Outcomes in Febrile and Afebrile Patients With Severe Sepsis. *Shock.* Oct 2018;50(4):381-387. doi:10.1097/shk.0000000000001083
166. Ho YP, Sheen IS, Chiu CT, Wu CS, Lin CY. A strong association between down-regulation of HLA-DR expression and the late mortality in patients with severe acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* May 2006;101(5):1117-24. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.00495.x
167. Sachse C, Prigge M, Cramer G, Pallua N, Henkel E. Association between reduced human leukocyte antigen (HLA)-DR expression on blood monocytes and increased plasma level of interleukin-10 in patients with severe burns. *Clin Chem Lab Med.* Mar 1999;37(3):193-8. doi:10.1515/cclm.1999.036
168. Satoh A, Miura T, Satoh K, et al. Human leukocyte antigen-DR expression on peripheral monocytes as a predictive marker of sepsis during acute pancreatitis. *Pancreas.* Oct 2002;25(3):245-50. doi:10.1097/00006676-200210000-00006
169. Dabrowski A, Osada J, Dabrowska MI, Wereszczynska-Siemiatkowska U. Monocyte subsets and natural killer cells in acute pancreatitis. *Pancreatology.* 2008;8(2):126-34. doi:10.1159/000123605
170. Amir O, Spivak I, Lavi I, Rahat MA. Changes in the monocytic subsets CD14(dim)CD16(+) and CD14(++)CD16(-) in chronic systolic heart failure patients. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:616384. doi:10.1155/2012/616384
171. Zhang R, Shi J, Zhang R, et al. Expanded CD14(hi)CD16(-) Immunosuppressive Monocytes Predict Disease Severity in Patients with Acute Pancreatitis. *J Immunol.* May 1 2019;202(9):2578-2584. doi:10.4049/jimmunol.1801194
172. Wang W, Xiang HP, Wang HP, Zhu LX, Geng XP. CD4 + CD25 + CD127 high cells as a negative predictor of multiple organ failure in acute pancreatitis. *World J Emerg Surg.* 2017;12:7. doi:10.1186/s13017-017-0116-7
173. Patil NK, Guo Y, Luan L, Sherwood ER. Targeting Immune Cell Checkpoints during Sepsis. *Int J Mol Sci.* Nov 14 2017;18(11)doi:10.3390/ijms18112413
174. Pagan A, Arroyo-Martinez YM, Tandon A, Bertran-Rodriguez C, Gill J. Immune Checkpoint Inhibitor-Induced Acute Pancreatitis and Colitis. *Cureus.* Jun 14 2020;12(6):e8613. doi:10.7759/cureus.8613
175. Yu X, Pan Y, Fei Q, Lin X, Chen Z, Huang H. Serum soluble PD-1 plays a role in predicting infection complications in patients with acute pancreatitis. *Immun Inflamm Dis.* Mar 2021;9(1):310-318. doi:10.1002/iid3.394
176. Keel M, Trentz O. Pathophysiology of polytrauma. *Injury.* Jun 2005;36(6):691-709. doi:10.1016/j.injury.2004.12.037
177. Menger MD, Vollmar B. Surgical trauma: hyperinflammation versus immunosuppression? *Langenbecks Arch Surg.* Nov 2004;389(6):475-84. doi:10.1007/s00423-004-0472-0
178. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity.* Nov 2005;23(5):479-90. doi:10.1016/j.immuni.2005.09.015

179. Fink GW, Norman JG. Specific changes in the pancreatic expression of the interleukin 1 family of genes during experimental acute pancreatitis. *Cytokine*. Dec 1997;9(12):1023-7. doi:10.1006/cyto.1997.0260
180. Norman JG, Fink GW, Denham W, et al. Tissue-specific cytokine production during experimental acute pancreatitis. A probable mechanism for distant organ dysfunction. *Dig Dis Sci*. Aug 1997;42(8):1783-8. doi:10.1023/a:1018886120711
181. Norman JG, Fink GW, Sexton C, Carter G. Transgenic animals demonstrate a role for the IL-1 receptor in regulating IL-1beta gene expression at steady-state and during the systemic stress induced by acute pancreatitis. *J Surg Res*. Jun 1996;63(1):231-6. doi:10.1006/jsre.1996.0253
182. Tanaka N, Murata A, Uda K, et al. Interleukin-1 receptor antagonist modifies the changes in vital organs induced by acute necrotizing pancreatitis in a rat experimental model. *Crit Care Med*. May 1995;23(5):901-8. doi:10.1097/00003246-199505000-00019
183. Paszkowski AS, Rau B, Mayer JM, Möller P, Beger HG. Therapeutic application of caspase 1/interleukin-1beta-converting enzyme inhibitor decreases the death rate in severe acute experimental pancreatitis. *Ann Surg*. Jan 2002;235(1):68-76. doi:10.1097/00000658-200201000-00009
184. Xu B, Bai B, Sha S, et al. Interleukin-1 β induces autophagy by affecting calcium homeostasis and trypsinogen activation in pancreatic acinar cells. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(7):3620-31.
185. Rau BM. Predicting severity of acute pancreatitis. *Curr Gastroenterol Rep*. Apr 2007;9(2):107-15. doi:10.1007/s11894-007-0004-5
186. Zhang J, Niu J, Yang J. Interleukin-6, interleukin-8 and interleukin-10 in estimating the severity of acute pancreatitis: an updated meta-analysis. *Hepatogastroenterology*. Jan-Feb 2014;61(129):215-20.
187. Aoun E, Chen J, Reighard D, Gleeson FC, Whitcomb DC, Papachristou GI. Diagnostic accuracy of interleukin-6 and interleukin-8 in predicting severe acute pancreatitis: a meta-analysis. *Pancreatology*. 2009;9(6):777-85. doi:10.1159/000214191
188. Pezzilli R, Billi P, Miniero R, 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*. Nov 1995;40(11):2341-8. doi:10.1007/bf02063235
189. Strieter RM, Kunkel SL, Bone RC. Role of tumor necrosis factor-alpha in disease states and inflammation. *Crit Care Med*. Oct 1993;21(10 Suppl):S447-63. doi:10.1097/00003246-199310001-00006
190. Malmstrøm ML, Hansen MB, Andersen AM, et al. Cytokines and organ failure in acute pancreatitis: inflammatory response in acute pancreatitis. *Pancreas*. Mar 2012;41(2):271-7. doi:10.1097/MPA.0b013e3182240552
191. 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*. Sep 2003;37(3):263-6. doi:10.1097/00004836-200309000-00013
192. Shen Y, Cui N, Miao B, Zhao E. Immune dysregulation in patients with severe acute pancreatitis. *Inflammation*. Feb 2011;34(1):36-42. doi:10.1007/s10753-010-9205-4
193. Panek J, Rembiasz K, Karcz D, Winiarski M, Zasada J. Acute biliary pancreatitis in the era of minimally invasive surgery. *Adv Med Sci*. 2006;51:98-102.

194. Surbatovic M, Radakovic S. Tumor necrosis factor- α levels early in severe acute pancreatitis: is there predictive value regarding severity and outcome? *J Clin Gastroenterol*. Aug 2013;47(7):637-43. doi:10.1097/MCG.0b013e31828a6cfc
195. Paajanen H, Laato M, Jaakkola M, Pulkki K, Niinikoski J, Nordback I. Serum tumour necrosis factor compared with C-reactive protein in the early assessment of severity of acute pancreatitis. *Br J Surg*. Feb 1995;82(2):271-3. doi:10.1002/bjs.1800820244
196. Digalakis MK, Katsoulis IE, Biliri K, Themeli-Digalaki K. Serum profiles of C-reactive protein, interleukin-8, and tumor necrosis factor-alpha in patients with acute pancreatitis. *HPB Surg*. 2009;2009:878490. doi:10.1155/2009/878490
197. Manohar M, Verma AK, Venkateshaiah SU, Sanders NL, Mishra A. Pathogenic mechanisms of pancreatitis. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. Feb 6 2017;8(1):10-25. doi:10.4292/wjgpt.v8.i1.10
198. Dinarello CA, Novick D, Kim S, Kaplanski G. Interleukin-18 and IL-18 binding protein. *Front Immunol*. Oct 8 2013;4:289. doi:10.3389/fimmu.2013.00289
199. Schneider A, Haas SL, Hildenbrand R, et al. Enhanced expression of interleukin-18 in serum and pancreas of patients with chronic pancreatitis. *World J Gastroenterol*. Oct 28 2006;12(40):6507-14. doi:10.3748/wjg.v12.i40.6507
200. Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, et al. Significant elevation of serum interleukin-18 levels in patients with acute pancreatitis. *J Gastroenterol*. Feb 2006;41(2):158-65. doi:10.1007/s00535-005-1735-4
201. Yuan BS, Zhu RM, Braddock M, Zhang XH, Shi W, Zheng MH. Interleukin-18: a pro-inflammatory cytokine that plays an important role in acute pancreatitis. *Expert Opin Ther Targets*. Oct 2007;11(10):1261-71. doi:10.1517/14728222.11.10.1261
202. Wereszczynska-Siemiatkowska U, Mroczo B, Siemiatkowski A. Serum profiles of interleukin-18 in different severity forms of human acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol*. Sep 2002;37(9):1097-102. doi:10.1080/003655202320378310
203. Pastor CM, Morel DR, Vonlaufen A, Schiffer E, Lescuyer P, Frossard JL. Delayed production of IL-18 in lungs and pancreas of rats with acute pancreatitis. *Pancreatol*. 2010;10(6):752-7. doi:10.1159/000317283
204. Sennello JA, Fayad R, Pini M, et al. Interleukin-18, together with interleukin-12, induces severe acute pancreatitis in obese but not in nonobese leptin-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jun 10 2008;105(23):8085-90. doi:10.1073/pnas.0804091105
205. Nishida A, Andoh A, Imaeda H, Inatomi O, Shiomi H, Fujiyama Y. Expression of interleukin 1-like cytokine interleukin 33 and its receptor complex (ST2L and IL1RAcP) in human pancreatic myofibroblasts. *Gut*. Apr 2010;59(4):531-41. doi:10.1136/gut.2009.193599
206. Schmieder A, Multhoff G, Radons J. Interleukin-33 acts as a pro-inflammatory cytokine and modulates its receptor gene expression in highly metastatic human pancreatic carcinoma cells. *Cytokine*. Nov 2012;60(2):514-21. doi:10.1016/j.cyto.2012.06.286
207. Kempuraj D, Twait EC, Williard DE, Yuan Z, Meyerholz DK, Samuel I. The novel cytokine interleukin-33 activates acinar cell proinflammatory pathways and induces acute pancreatic inflammation in mice. *PLoS One*. 2013;8(2):e56866. doi:10.1371/journal.pone.0056866
208. Masamune A, Watanabe T, Kikuta K, Satoh K, Kanno A, Shimosegawa T. Nuclear expression of interleukin-33 in pancreatic stellate cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. Oct 2010;299(4):G821-32. doi:10.1152/ajpgi.00178.2010

209. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol*. 2012;32(1):23-63. doi:10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30
210. Sabat R, Grütz G, Warszawska K, et al. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev*. Oct 2010;21(5):331-44. doi:10.1016/j.cytogfr.2010.09.002
211. Demols A, Van Laethem JL, Quertinmont E, et al. Endogenous interleukin-10 modulates fibrosis and regeneration in experimental chronic pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. Jun 2002;282(6):G1105-12. doi:10.1152/ajpgi.00431.2001
212. Gloor B, Todd KE, Lane JS, Rigberg DA, Reber HA. Mechanism of increased lung injury after acute pancreatitis in IL-10 knockout mice. *J Surg Res*. Nov 1998;80(1):110-4. doi:10.1006/jsre.1997.5289
213. Osman MO, Jacobsen NO, Kristensen JU, et al. IT 9302, a synthetic interleukin-10 agonist, diminishes acute lung injury in rabbits with acute necrotizing pancreatitis. *Surgery*. Sep 1998;124(3):584-92.
214. Berney T, Gasche Y, Robert J, et al. Serum profiles of interleukin-6, interleukin-8, and interleukin-10 in patients with severe and mild acute pancreatitis. *Pancreas*. May 1999;18(4):371-7. doi:10.1097/00006676-199905000-00007
215. Chen CC, Wang SS, Lu RH, Chang FY, Lee SD. Serum interleukin 10 and interleukin 11 in patients with acute pancreatitis. *Gut*. Dec 1999;45(6):895-9. doi:10.1136/gut.45.6.895
216. Kusske AM, Rongione AJ, Ashley SW, McFadden DW, Reber HA. Interleukin-10 prevents death in lethal necrotizing pancreatitis in mice. *Surgery*. Aug 1996;120(2):284-8; discussion 289. doi:10.1016/s0039-6060(96)80299-6
217. Rongione AJ, Kusske AM, Reber HA, Ashley SW, McFadden DW. Interleukin-10 reduces circulating levels of serum cytokines in experimental pancreatitis. *J Gastrointest Surg*. Mar-Apr 1997;1(2):159-65; discussion 165-6. doi:10.1016/s1091-255x(97)80104-7
218. Van Laethem JL, Marchant A, Delvaux A, et al. Interleukin 10 prevents necrosis in murine experimental acute pancreatitis. *Gastroenterology*. Jun 1995;108(6):1917-22. doi:10.1016/0016-5085(95)90158-2
219. Pezzilli R, Billi P, Miniero R, Barakat B. Serum interleukin-10 in human acute pancreatitis. *Dig Dis Sci*. Jul 1997;42(7):1469-72. doi:10.1023/a:1018814710291

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Tarih:

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın adı;

Akut biliyer pankreatitlerde mortalite ve morbidite belirlenmesinde immün parametrelerin değerlendirilmesi

Bu çalışma sizlerle gerçekleştirmeyi planladığımız bir araştırmadır. Pankreatit özellikle safra kesesi taşı olan hastalarda sık olarak gözlenen bir komplikasyon olmakla birlikte, bilier pankreatit hastalarının çoğu spontan bir şekilde sekelsiz iyileşebilse de, hastaların %10-20'sinde hastalık ağır bir şekilde seyretmekte ve bu hastalarda ise %30'a varan ölüm oranları saptanmaktadır. Ağır pankreatit hastalarının erken dönemde agresif sıvı replasmanı, organ hasarı takibi, uygun antibiyoterapi ve gerektiğinde endoskopik sfinkterotomi ve radyolojik girişimlerden çok yarar görebilmektedir.

Akut biliyer pankreatitin değerlendirilmesinde geçmişten günümüze bir çok skorlama sistemi oluşturulmuş ve hastalığın gidişatı saptanmaya çalışılmıştır. Akut pankreatitin değerlendirilmesinde immün parametrelerle ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Akut biliyer pankreatit tanısı konulan hastalarda hastalığın gidişatının tanı anında belirlenmesi, tedavi ve sağ kalım için son derece önemlidir. Çalışmamızda tanı anında sizden alınacak kan ile yapılacak analizler sonucu, bu değerler ile hastalığın klinik gidişatı, morbidite ve mortalitesi arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Çalışmamız İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi' ne akut biliyer pankreatit nedeniyle başvuran hastalardan kan alınarak gerçekleştirilecektir. Hedeflenen şekilde 150 hastaya ulaşıldığında çalışma sonlandırılacaktır. Sizden bir seferlik kan örneği dışında kesinlikle kan, idrar vb. tahlil talep edilmeyecek; sizlere kesinlikle bu çalışma için herhangi bir ilaç verilmeyecek ya da başka bir tedavi uygulanmayacaktır. İsmiğiniz kesinlikle saklı tutulacak ve bilgileriniz kamuoyuna açıklanmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, etik kurul, kurum ve diğer ilgili sağlık otoriteleri sizin orijinal tıbbi kayıtlarınıza doğrudan erişimlerinin bulunabilir, ancak bu bilgilerin gizli tutulacaktır, yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun imzalanmasıyla gönüllü veya kanuni temsilcisi söz konusu erişime izin vermiş olacaktır.

Bu çalışmadan toplu bir sonuç çıkacaktır. Bu nedenle kısa dönemde çalışma sonuçlarından sizin ve veya ailenizin diğer bireylerinin yararlanması söz konusu olmayabilir. Fakat bu çalışmada yer almanız, bilimsel literatüre katkı sağlayacaktır.

Vereceğiniz kan örneğiyle, çalışmanın sonuçlarından herhangi bir ticari kazanç beklememeyi taahhüt ediyorsunuz. Bu çalışmaya katılmak için herhangi bir ücret ödemeniz de gerekmemektedir.

Kimlik bilgileriniz araştırma sonuçları yayınlansa dahi saklı tutulacak ve analiz sonuçlarınız yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacaktır.

Bu çalışma bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kurumuna bir gider yüklemeyecektir. Çalışma sırasında, herhangi bir ilaç ya da tedavi kullanılmayacağı için çalışmaya katılmanın size getireceği bir yan etki söz konusu değildir.

Bu çalışmaya katılıp katılmamakta özgürsünüz. Bu çalışmaya katılmayı kabul etmeseniz de merkezimizde yürütülen tedavinizde herhangi bir aksama olmayacaktır. İstedığınız zaman bize

haber vererek çalışmadan çekilebilirsiniz, tarafımızca gerek görüldüğünde ise araştırma dışı bırakılabileceğinizi belirtiriz.

Yürümekte olan bu çalışmanın sonuçları hakkında Dr. Ufuk Oğuz İdiz' den bilgi alabilirsiniz. Araştırma, kendi haklarınız veya araştırmayla ilgili herhangi bir advers olay hakkında daha fazla bilgi temin edebilmesi için yani herhangi bir sorunuz ya da sorunuz olduğu takdirde bu araştırmacıya günün 24 saati 5062044714 no'lu telefondan ulaşabilirsiniz.

Sayın Dr. Ufuk Oğuz İdiz tarafından İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi' nde pankreatit çalışması yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim.

Gönüllü parafı:

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Ufuk Oğuz İdiz' i 5062044714 no'lu telefondan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama Dr. Ufuk Oğuz İdiz tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum

Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı, İmzası, Tarih, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı-soyadı, İmzası, Tarih, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı-soyadı, İmzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin Adı-soyadı, İmzası,
Görevi



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

AKUT BİLİYER PANKREATİTLERDE MORTALİTE VE MORBİDİTE BELİRLENMESİNDE İMMUNOLOJİK PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%6

BENZERLİK ENDEKSİ

%5

İNTERNET KAYNAKLARI

%3

YAYINLAR

%2

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

%1

2

tez.sdu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

3

clinicaltrials.gov

İnternet Kaynağı

<%1

4

acikerisim.istanbul.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

5

worldwidescience.org

İnternet Kaynağı

<%1

6

istanbulsaglik.gov.tr

İnternet Kaynağı

<%1

7

www.istanbulsaglik.gov.tr

İnternet Kaynağı

<%1

8

Submitted to Erciyes Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

<%1