

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL AKUT PANKREATİT MODELİNDE  
TRİMETAZİDİNE'İN MORTALİTEYE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Hakan ERGÜCÜK  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Cüneyt KAYAALP**

**MALATYA – 2012**



**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL AKUT PANKREATİT MODELİNDE**  
**TRİMETAZİDİNE'İN MORTALİTEYE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Hakan ERGÜCÜK**  
**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Cüneyt KAYAALP**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yanımda olan, sevgi ve sabrını esirgemeyen eşim Arzu ERGÜCÜK; sevgili kızım Ece Naz, oğlum H.Çağrı; ve yakınlarıma teşekkür ederim.

Genel Cerrahi uzmanlık eğitimim boyunca vizyonu ile ufku açan ve yanında çalışmaktan gurur duyduğum hocam Prof. Dr. Sezai YILMAZ'a,

Tez çalışmamda önderlik yapan ve tüm eğitim sürecimde olduğu gibi bu süreçte de bana ışık tutan ve anlayışta bulunan, hocam Prof.Dr.Cüneyt KAYAALP'e,

Cerrahi eğitimim boyunca bende emeği olan, başta Prof. Dr.Sezai YILMAZ olmak üzere; sayın hocalarım Prof.Dr.Cüneyt KAYAALP, Prof.Dr.Cengiz ARA, Doç. Dr. Burak IŞIK, Doç. Dr. Mehmet YILMAZ, Doç. Dr. Bülent ÜNAL, Doç. Dr. Cemalettin AYDIN, Doç.Dr.Abuzer DİRİCAN, Yrd. Doç. Dr. Dinçer ÖZGÖR, Yrd. Doç. Dr. Turgut PİŞKİN, Yrd. Doç. Dr. Mustafa ATEŞ, Yrd. Doç. Dr. Fatih ÖZDEMİR, Öğr. Gör. Dr. Emrah OTAN'a,

Tez çalışmamda bana yardımcı olan Op. Dr. Orhan GÖZENELİ, Dr. Sertaç USTA ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Ayrıca tezimde bana yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Sevil IŞIK, Doç. Dr. Hakan PARLAKPINAR, Doç. Dr. Mehmet GÜL, Prof. Dr. Elif ÖZEROL, Doç. Dr. Başak AYHAN'a,

Tüm Genel Cerrahi servis ,poliklinik ve ameliyathane çalışanlarına;

şükran duygularımı arz ederim.

| <b>İÇİNDEKİLER</b>                                                      | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>1 Giriş ve Amaç</b>                                                  | <b>6</b>     |
| <b>2 Genel Bilgiler</b>                                                 | <b>7</b>     |
| <b>2.1 Akut Pankreatit</b>                                              | <b>7</b>     |
| <b>2.2 Patogenez</b>                                                    | <b>12</b>    |
| <b>2.2.1 Apoptotik Hücrede Yapısal Değişiklikler ve Tayin Metodları</b> | <b>13</b>    |
| <b>2.2.2 Akut Pankreatit ve SOR'ı</b>                                   | <b>14</b>    |
| <b>2.2.3 Trimetazidine ve SOR'i</b>                                     | <b>16</b>    |
| <b>2.3 Pankreasın Embriyolojisi</b>                                     | <b>18</b>    |
| <b>2.4 Pankreasın Histolojisi</b>                                       | <b>19</b>    |
| <b>2.5 Pankreasın Anatomisi</b>                                         | <b>23</b>    |
| <b>2.6 Sınıflandırma</b>                                                | <b>27</b>    |
| <b>2.7 Klinik</b>                                                       | <b>29</b>    |
| <b>2.8 DeneySEL AP Modeller</b>                                         | <b>31</b>    |
| <b>3 Materyal ve Metod</b>                                              | <b>33</b>    |
| <b>3.1 Deney Hayvanları</b>                                             | <b>33</b>    |
| <b>3.2 Çalışma Grupları</b>                                             | <b>33</b>    |
| <b>3.3 Yöntem</b>                                                       | <b>34</b>    |
| <b>3.4 Örneklerin Alınması</b>                                          | <b>35</b>    |
| <b>3.5 Sonuçların Değerlendirilmesi</b>                                 | <b>37</b>    |
| <b>3.6 İstatiksel Yöntem</b>                                            | <b>41</b>    |
| <b>4.Bulgular</b>                                                       | <b>50</b>    |
| <b>4.1 Biyokimyasal Bulgular</b>                                        | <b>50</b>    |
| <b>4.2 Patolojik Bulgular</b>                                           | <b>53</b>    |
| <b>4.3 Sitolojik Bulgular</b>                                           | <b>57</b>    |
| <b>5.Tartışma</b>                                                       | <b>59</b>    |
| <b>6. Sonuç</b>                                                         | <b>64</b>    |
| <b>7.Özet</b>                                                           | <b>65</b>    |
| <b>8.Abstract</b>                                                       | <b>66</b>    |
| <b>9.Kaynaklar</b>                                                      | <b>67</b>    |

| <b>TABLolar VE ŐEKİLLER DİZİNİ</b>                  | <b>Sayfa</b> |
|-----------------------------------------------------|--------------|
| <b>Tablo 1. Akut Pankreatite yol açan faktörler</b> | <b>8</b>     |
| <b>Tablo 2. Akut Pankreatite yol açan ilaçlar</b>   | <b>10</b>    |
| <b>Tablo 3. Serbest Oksijen Radikalleri</b>         | <b>14</b>    |
| <b>Tablo 4. Deneysel akut pankreatit modelleri</b>  | <b>31</b>    |
| <b>Tablo 5. Histolojik Skorlama Sistemi</b>         | <b>42</b>    |
| <b>Tablo 6. Biyokimyasal sonuçlar</b>               | <b>51</b>    |
| <b>Tablo 7. Biyokimyasal doku sonuçları</b>         | <b>52</b>    |
| <b>Tablo 8. Caspase-3 sonuçları</b>                 | <b>57</b>    |
| <br>                                                |              |
| <b>Grafik 1.Ödem düzeyi</b>                         | <b>53</b>    |
| <b>Grafik 2.Nekroz düzeyi</b>                       | <b>54</b>    |
| <b>Grafik 3.Hemoraji düzeyi</b>                     | <b>55</b>    |
| <b>Grafik 4.Enflamasyon düzeyi</b>                  | <b>56</b>    |
| <b>Grafik 5.Caspase-3 düzeyi</b>                    | <b>58</b>    |

| <b>RESİMLER DİZİNİ</b>                                                                         | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Resim 1.</b> İnsan embriyosunda pankreas, a) 5. hafta b) 6. hafta                           | 19           |
| <b>Resim 2.</b> Pankreasın komşulukları                                                        | 23           |
| <b>Resim 3.</b> Pankreasın Anatomisi                                                           | 26           |
| <b>Resim 4.</b> Pankreasın Damarları                                                           | 26           |
| <b>Resim 5,6,7,8,9,10,11,12.</b> Ratlardan örneklerin alınması                                 | 35-36        |
| <b>Resim13.14.Kont.grubu:</b> Normal hist.gör. ekzokrin pankreas. H-E, x20                     | 44           |
| <b>Resim 15,16.Sham grubu:</b> Normal hist. Gör. ekz. ve end. pank.. H-E, x20                  | 45           |
| <b>Resim 17.Pank. grubu:</b> Lökosit infilt., asiner dejene, interstisyel ödem. H-E, x20       | 46           |
| <b>Resim 18.Pank. grubu:</b> Asiner dej., hemoraji, interstisyel ödem, lök. infil.H-E, x20     | 46           |
| <b>Resim 19.Pank. grubu:</b> Asiner nekroz ve dej., hemoraji, int.ödem, lök. infilt.. H-E, x20 | 47           |
| <b>Resim 20 Pank. grubu:</b> Asiner dej., ap. cis., lök. İnfil., inters.ödem.H-E,              | 47           |
| <b>Resim 21 Pank.+tdv grb:</b> Minimal interstisyel ödem lökosit infiltrasyonu. H-E, x20       | 48           |
| <b>Resim 22 Pank.+tdv grb:</b> Minimal interstisyel ödem lökosit infiltrasyonu. H-E, x20       | 48           |
| <b>Resim 23 Pank.+tdv grb:</b> Normal hisitolojik görünümde ekzokrin pankreas. H-E, x20        | 49           |

## KISALTMALAR

|                               |                                       |
|-------------------------------|---------------------------------------|
| AP                            | : Akut pankreatit                     |
| TMZ                           | :Trimetazidine                        |
| SOR                           | :Serbest oksijen radikalleri          |
| MODS                          | :Multipl organ disfonksiyonu          |
| NO                            | :Nitrik oksit                         |
| cAMP                          | :Siklik adenosin monofosfat           |
| TNF-a                         | :Tümör nekrotik faktör alfa           |
| İL                            | :İnterlökin                           |
| O <sub>2</sub> <sup>•</sup>   | :Superoksit serbest radikal           |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | :Hidrojen peroksit                    |
| SIRS                          | :Sistemik inflamatuvar cevap sendromu |
| ATP                           | :Adenosin trifosfat                   |
| AST                           | :Aspartat aminotransferaz             |
| ALT                           | :Alanin aminotransferaz               |
| LDH                           | :Laktat dehidrogenaz                  |
| SOD                           | :Süperoksit dismutaz                  |
| CAT                           | :Katalaz                              |
| GSH-Px                        | :Glutathion peroksidaz                |
| MDA                           | :Malondialdehid                       |
| PC                            | :Protein karbonil                     |
| GSH                           | :Glutathion redüktaz                  |
| BPK                           | :Biliopankreatik kanal                |
| PAS                           | :Periodic acid Schiff                 |
| H-E                           | :Hematoksilen-eosin                   |

## 1-GİRİŞ VE AMAÇ

Akut Pankreatit çeşitli etiyolojik faktörlerin rol oynadığı önemli komplikasyonlara yol açabilen, oldukça yüksek morbidite ve mortalite oranına sahip ciddi bir hastalıktır(1-2).Geçen yüz yıllık süre içinde yapılan deneysel ve klinik birçok çalışmadan elde edilen birçok bilgi birikimine rağmen akut pankreatitin etiyolojisi, patogenezi ve özellikle tedavisi halen tartışma konusudur (3-4).

Akut pankreatit, pankreasta inaktif durumda bulunan sindirim enzimlerinin herhangi bir etiyolojik sebeple aktifleşerek pankreas ve çevre dokularda ödem, hemoraji, nekroz oluşturmaktadır. Klinikte karın ağrısı, kan ve idrarda pankreatik enzimlerin yükselmesi ile karakterizedir(5-6).

Hayvan deneylerinde akut pankreatit oluşturmak üzere sık kullanılan Na-taurokolik asit, bir safra asitidir; deneysel akut pankreatit modeli oluştururken pankreatikobiliyer kanaldan verilir. Bu modelde kullanılan maddenin konsantrasyon ve uygulama basıncının ayarlanabilirliğine göre, insanlardaki gibi hafif ve şiddetli pankreatit oluşturulabilir.

Trimetazidin, güçlü antiiskemik, antioksidan bir ajandır.Trimetazidin hipoksik ve iskemik hücrede biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri belirgin şekilde gerileterek pankreası histolojik olarak korumaktadır(7-8).

Bu çalışmanın amacı; beyin, kalp, karaciğer gibi hücrelerde mitokondri membran stabilizasyonu yaptığı bilinen trimetazidine' in şiddetli akut pankreatit' de nekrozu engelleyici yada zayıflatıcı bir ajan olup olmayacağını ve mortaliteye etkisini değerlendirmektir.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1.Akut Pankreatit**

Akut pankreatit (AP); sindirim enzimlerinin pankreas dokusu içinde aktive olmasıyla gelişen ve tipik olarak karın ağrısıyla başlayan, kan ve idrarda pankreas enzimlerinin yüksekliği ile seyreden inflamatuvar bir hastalıktır (9). Akut pankreatit %5-10 oranında mortaliteye sahip sık görülen bir hastalık olmaya devam etmektedir. Olguların çoğu hafif ve kendini sınırlayan olgulardır ve iyi prognoza sahiptir. Şiddetli hastalığa sahip olguların %10-20'si pankreas nekrozu ve uzak organ yetmezliği ile karakterizedir. Yoğun bakım ve muhtemel cerrahi müdahale gerektiren hastaların mortalitesi %40'a kadar çıkmaktadır(10).

Akut pankreatitin yıllık insidansı 5-80/100.000 arasında değişmektedir. Son yıllarda akut pankreatit insidansı ile ilgili yapılan birçok çalışma sayının arttığını düşündürmektedir(11). Erkek kadın oranı 1.9/ 1'dir ve erkeklerde 7. dekadta, bayanlarda 8. dekadta pik yapar(11). Cinsiyet ile akut pankreatit riski arasında güçlü bir ilişki vardır. Alkolik pankreatit insidansı erkeklerde daha yüksekken, safra taşı pankreatiti bayanlarda daha yüksektir(11-12). Akut pankreatitin en sık iki nedeni alkol ve safra taşıdır. AP, semptomatik safra taşı bulunan hastaların %3-8'inde meydana gelir (13).

Pankreas retroperitoneal yerleşimli hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyonları olan bir organdır. Pankreasın %80'i ekzokrin, %2'si endokrin fonksiyonlardan sorumludur. % 18'lik kıs mı fibröz doku, damar, sinir ve kanallardan oluşmaktadır. Duodenumdan dalağa dek uzanır. Anteriosuperior tarafında mide, duodenum ve dalak yerleşir. Anterioinferior tarafında duodenum, jejunum, transvers kolon ve dalak yerleşir.

**Tablo1:Akut Pankreatite yol açan faktörler**

|                                         |                       |
|-----------------------------------------|-----------------------|
| Akut ya da kronik alkol kullanımı       | Cerrahi Müdahaleler   |
| Safra taşı hastalıkları                 | ERCP Sonrası          |
| İlaçlar                                 | Kistik Fibrozis       |
| Künt ya da penetran abdominal travmalar | Vasküler hastalıklar  |
| Metabolik hastalıklar                   | Hereditör hastalıklar |
| Pank. ve ampullar bölge tümörleri       | İdiyopatik nedenler   |

### **2.1.1 Alkol Kullanımı**

Akut pankreatit etyolojisi ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir. ABD, Güney Afrika Cumhuriyeti, Avustralya gibi aşırı alkol tüketilen ülkelerde AP' li hastaların %50'den çoğunda etyolojiden alkol kullanımı sorumlu tutulmaktadır(14-15).Kronik alkoliklerin yaklaşık %10- 15 kadarında akut pankreatit gelişmektedir (16). Alkolik pankreatitlerde mortalite oranları biliyer pankreatitlere nazaran daha düşüktür. Alkolün

nasıl etki ettiği tam olarak bilinmemektedir. Alkol, asiner hücrelerde sindirim enzimlerinin sentezlerini artırabilir. Alkolün Oddi sfinkterini genişleterek ya da spazma uğratarak da etki edebileceği ileri sürölmüştür (17,18). Diğer bir teori de alkolün ya da bir metabolitinin doğrudan pankreas üzerine olan zararlı etkilerinin var olabileceğidir (17). Alkole bağlı akut pankreatitlerin kronik pankreatit zemininde gelişebileceği bilinmektedir. Migliori'nin çalışmasında, pankreatik nekroz nedeniyle cerrahi müdahale uygulanan akut alkolik pankreatitli 6 hastanın pankreaslarının histopatolojik incelemelerinde akut ve kronik değişikliklere rastlanmıştır(19). Bazı çalışmalarda da akut alkolik pankreatit geçiren hastaların bir kısmında alkol alımı devam etmesine rağmen, kronik pankreatitin gelişmediği bildirilmektedir.

### **2.1.2 Safra Yolu Taşları**

Ölkemizde AP' in en sık nedeni safra yolu taşları olup, Safra taşı varlığında AP gelişme riski, erkeklerde daha fazladır; fakat safra taşı kadınlarda daha fazla göröldüğü için AP' de kadınlarda daha fazla görölmektedir. Safra taşının çapı, 5 mm'den daha küçük ise AP daha kolay gelişmektedir (20). Bu durum, küçük taşların sistik kanaldan kolayca geçip, ampullada obstrüksiyon yapmaları ile ilişkilidir.

Biliyer sludge (safra çamuru); 5 mm'den küçük taşları bulunduran kesedeki viskoz bir süspansiyondur. Bu tür hastalar genellikle asemptomatikler. Çamur oluşumu, fonksiyonel veya mekanik safra stazlarında ortaya çıkmaktadır. Safra çamuru ve AP arasındaki ilişki ispatlanamamıştır. Prospektif randomize çalışmalar bulunmamakla birlikte bazı kontrolsüz çalışmalarda safra çamuru bulunan pankreatitli hastalarda yapılan kolesistektomilerin sonraki pankreatit ataklarını önlemede faydalı olduğu gösterilmiştir (21).

### 2.1.3 İlaç Kullanımı

AP'lerin gelişmesinde ilaçların rolü düşük olup yapılan bir çalışmada %1.4 olarak bulunmuştur. İlaça bağlı akut pankreatitlerde prognoz mükemmeldir ve mortalité nadirdir. Vakaların çoğunluğu interstisyel formdadır (%86)(22).

**Tablo2:Akut Pankreatite yol açan ilaçlar**

|                              |                   |
|------------------------------|-------------------|
| Sülfanamidler                | Tetrasiklinler    |
| Oral kontraseptifler         | Mercaptopurine    |
| Azathioprine                 | Thiazideler       |
| Furosemide                   | Ethanol           |
| Valproic asit                | Pentamidine       |
| Methanol                     | ACE inhibitörleri |
| Organophospate insektisitler | 2-3 dideoxynosine |

### 2.1.4 Cerrahi Müdahaleler

Pankreas civarındaki operasyonlar (gastrektomi, safra yolu cerrahisi, splenektomi), kardiyopulmoner by-pass operasyonları, torasik operasyonlar ve renal transplantasyonlardan sonra görülebilmektedir. Ameliyat sırasında pankreasa doğrudan olan travmalar, pankreas kan dolaşımının bozulması, perioperatif peryotta oluşan hipotansiyon ve pankreatik sıvıdaki tripsin inhibitör seviyelerinin azalması; patogeneizde rol oynuyor olabilir. Özellikle abdominal cerrahi müdahalelerden sonra gelişen pankreatiti tanımak zordur. Karın ağrısı ve hassasiyet kullanılan ilaçlardan dolayı silikleşmiş olup, postoperatif rahatsızlık hissi olarak değerlendirilmekte, tanı gecikmekte ve mortalité de yüksek oranda olmaktadır. Yapılan bir çalışmada mortalité oranı %1 olarak bulunmuştur (23).

### 2.1.5 Metabolik Hastalıklar

**Hipertrigliseridemi:** Tüm akut pankreatitlerin %1.3-3.8'ini oluşturur (24). Serum trigliserit konsantrasyonunun 1000 mg/dl' yi aşması, AP ataklarını presipite edebilmektedir ki bunun patogenezi açık değildir. Pankreatik lipazın, trigliseritleri serbest yağ asitlerine dönüştürmesi ve açığa çıkan serbest yağ asitlerinin pankreatik dokuya zarar vermesi muhtemel görünmektedir. Serbest yağ asitleri aynı zamanda pankreas mikrosirkülasyonunu da bozarak iskemiye yol açabilmektedir (25). Bazı lipoprotein bozukluklarında, özellikle Frederickson tip-I, tip IV ve tip V hiperlipoproteinemiler de pankreatit gelişme riski yüksektir.

**Hiperkalsemi:** Hiperkalsemiye yol açan nedenler (hiperparatiroidizm, paratiroid adenomu, myeloma, aşırı vitamin D alımı, familial hipokalsiürik hiperkalsemi, TPN, kalsiyum karbonat içeren antiasitlerin uzun süreli kullanımı) akut pankreatite yol açabilmektedir. İleri sürülen mekanizma, kalsiyumun pankreatik kanal içinde birikmesi ve parankim içinde tripsinojenin kalsiyum tarafından aktive edilmesidir. Hiperparatiroidisi olan hastalardaki AP insidansı %0,2-1,5 civarındadır (17). Akut pankreatitli 1475 hastayı kapsayan bir çalışmada primer hiperparatiroidi oranı %0,4 olarak bulunmuştur (25).

## 2.2 Patogenez

Bugün için akut pankreatitte ortaya çıkan histopatolojik değişikliklerden aktive olmuş sindirim enzimlerinin, özellikle tripsinin sorumlu olduğu hipotezi yaygın kabul görmüştür. Fizyolojik koşullarda tripsinojen, enterokinaz enzimi tarafından aktif tripsine dönüştürülmektedir. Patolojik koşullar altında ise tripsin aktivasyonunun pankreas dokusunda üç farklı yerde olabileceğine dair hipotezler ortaya atılmıştır.

a-Pankreas kanalı içinde

b-Pankreas parankimi içinde

c-Asiner hücre içinde

Akut pankreatitin patogenezi hala tam olarak aydınlatılamamıştır. İlk aşamada tetikleyici bir faktör mevcuttur. Bu da genellikle pankreas dışı bir nedendir. Klinik olarak bunlardan en önemlisi alkol alımı veya safra yollarından taşın geçmesidir. Hücre hasarı oluşumunda en kritik ve en erken gerçekleşen olay tripsinojenin asiner hücre içinde bulunan lizozomal hidrolaz katepsin B yardımıyla aktive olmasıdır. Sindirici ve lizozomal enzimler arasındaki reaksiyon sonucunda proteazların erken aktivasyonu asiner hücre hasarına yol açmaktadır. Sonuçta aktive olmuş proteazlar pankreas intertisyumuna sızar. Pankreas intertisyumuna, retroperitona, peritoneal kaviteye ve sirkülasyona sızan enzimler otosindirim sonucunda nekrotizan hasar oluştururlar (26-27).

Asiner hücre hasarını takiben, proinflamatuvar sitokin kaskadı oluşmaktadır. Lokalize inflamasyon vücutta oluşan ilk fizyolojik koruyucu cevaptır ve genellikle hasarın olduğu alanda sınırlı kalmaktadır. Lokal kontrolün kaybolması inflamatuvar hücrelerin aşırı kontrolsüz aktivasyonuna yol açmaktadır. Bu durum klinik olarak sistemik inflamatuvar cevap sendromu(SIRS) olarak saptanır. SIRS'da sık komplikasyon olarak da akut akciğer hasarı, şok, renal yetmezlik ve MODS gibi organ sistem disfonksiyonları oluşmaktadır. Lokalize pankreas nekrozu ve inflamasyonun nasıl MODS ile seyreden SIRS' a ilerlediği hala tam olarak açıklanamamıştır (28-29-30).

Monosit/makrofaj ve polimorfonükleer granulositlerin (PMN) aktivasyonunun ağır AP seyrinin erken evresinde olduğu son bir kaç yıldır tanımlanmıştır. Bu olay hastalığın lokal inflamatuvar nekroza SIRS'a progresyonunda önemli rol oynamaktadır. Lökosit aktivasyonu mikrosirkülasyonda lökosit agregasyonu ve doku infiltrasyonu artmasına yol açmaktadır. Sonuçta dolaşımda lökositler (PMNs ve makrofajlar) sitokinlerin ( TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6 ve IL-8, PAF, ICAM-1) ve diğer inflamatuvar

mediatörlerin (prostaglandinler, lökotrienler, tromboksanlar, platelet aktive faktör, serbest radikaller, nitrik oksid ve proteazlar) üretimini artırır. Bu sebeple aktive olmuş lökositler tarafından salgılanan faktörler, hastalığın şiddetini yansıtmaktadır (31-32).

### **2.2.1 Apoptotik hücrede yapısal değişiklikler ve tayin metodları**

Apoptosis, pankreatik hücre hasarında koruyucu bir yanıt olabilir, hücreye enerji tasarruf, verimlilik, nekroz için zaman kazandırır. Bax, Bcl-2 apoptozisi düzenleyen genlerdir. AP nin şiddeti ile apoptozis arasında negatif bir korelasyon vardır, pankreas asiner hücre hasarında iltihabi reaksiyonu hafifletmek için yararlıdır. Kaiser ve arkadaşları AP ile apoptozis arasındaki ilişki için 5 deneysel çalışma yaptı, pankreas asiner hücrelerinde nadiren nekroz oluştu ve faydalı bir reaksiyon olduğu görüldü (33-34).

Programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptoziste gözlemlenen değişiklikleri erken apoptozis ve geç apoptozis diye sınıflamak mümkündür. Kabaca özetlemek gerekirse, erken dönemlerde membran fonksiyonlarında sadece polarite kaybı varken geç apoptoziste ise; hasarlanmış membran fonksiyonunu takiben bleb (sitoplazmik çıkıntı) formasyonları oluşur. Apoptoziste membran bütünlüğü nekrozdan farklı olarak son aşamaya kadar korunmaktadır (35-36). Apoptozisin mikroskop altında gözlenmesinde en dikkat çekici değişiklik; hücrenin dış kenarındaki reorganizasyon ve şekil değişiklikleridir. Hücre yüzeyinde oluşan çıkıntılar ışık ve elektron mikroskop ile görülebilir hale gelir. Bu çıkıntılara bleb adı verilir. Normalde bu değişikliklerde kaspazlar rol oynamaktadır. Caspase-3' ün eksik olduğu farelerde, hepatosit ve timositte bleb oluşumunda belirgin bir azalma görülmüştür (37-38).

**Kaspazların** kendi proteolitik aktivasyonundan kaynaklanan neoepitoplara karşı kullanılan antikorlar ile ve immünohistokimyasal metotlarla da kaspaz aktivasyonunu tayin etmek mümkündür (39).

Biz bu çalışmada Kaspazlara bakmaktayız.

### **2.2.2 Akut Pankreatit ve SOR'i**

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenler nedeniyle devamlı bir radikal yapımı söz konusudur. Hücrel koşullarda da önemli bir miktarda çeşitli radikaller üretilmektedir (40).

**Tablo 3:**

| <b>Serbest Oksijen Radikalleri:</b> |
|-------------------------------------|
| <b>Süperoksit serbest radikal</b>   |
| <b>Hidrojen peroksit</b>            |
| <b>Hidroksil radikali</b>           |
| <b>Nitrik oksit</b>                 |
| <b>Peroksinitrit</b>                |

Oksijenden tek elektron indirgenmesi sonucu oluşan SOR'nin oksidan yıkım, iskemi-reperfüzyon ve doku inflamasyonu gibi birçok olayda önemli rol oynar. Organizmada SOR'nin oluşturduğu reaksiyonlar radikalın bir diğer radikal ile veya radikal olmayan bir ajan ile karşılaşması sonucu oluşur. Serbest radikaller organizmada radikal olmayan birçok hücre bileşeni ile de reaksiyona girerek bu bileşenlerin yapı ve işlevlerini değiştirebilir. Böylece serbest radikaller organizmada DNA yıkımı, proteinlerin, membran lipidlerinin ve organellerin yıkımı, enzim aktivitelerinde değişiklik gibi moleküler düzeyde birçok biyolojik olaya neden olurlar (40). SOR'ne bağlı oksidatif hasar, akut pankreatitin başlamasında önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir. Pankreatik asiner hücreler SOR'ne karşı oldukça duyarlıdır. Oksidanlarla, vücut savunmasında önemli görev üstlenmiş olan

antioksidan sistem arasındaki dengesizlik akut pankreatitin gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir role sahiptir. Birçok hayvan deneyi modellerinde akut ödematöz pankreatit oluşturulmuş ve bu pankreatit tablosunun SOR önleyici/süpürücü maddelerle (SOD, katalaz, allopurinol, melatonin, askorbik asit, E vitamini, vd.) önlenemediği gösterilmiştir (3-4).

SOR'nin AP patogenezinde ki potansiyel rolü, Sanfey ve arkadaşlarının perfüze köpek pankreası modeliyle ortaya konmuştur (41-42). Bu otörler serbest yağ asitleri ile arteriel perfüzyon, bir süre total arteriel iskemi oluşturma, pankreas kanalının parsiyel obstruksiyonu + sekretin stimülasyonu gibi çeşitli yöntemler kullanarak AP modelleri oluşturmuşlar ve SOR'ni elimine eden enzimler (süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz ile köpek pankreasın perfüzyonunun AP gelişimine karşı önemli koruma sağladığını göstermişlerdir. Serbest radikaller, pankreatik dokuda antioksidanların kaybına yol açarak iskemi-reperfüzyona bağlı asiner hücre hasarına katkıda bulunabilirler. Pankreasın iskemi-reperfüzyon hasarı ile de ilgili spekülasyonlar vardır. Bu hasar mekanizması, kalp, ince bağırsaklar ve iskelet kası gibi diğer organlarda daha iyi tanımlanmıştır. Hasarlı dokuların reperfüzyonu; serbest oksijen radikallerinin ve inflamatuvar sitokinlerin dolaşıma salınımına ve bu da daha ileri hasarlara yol açabilmektedir. Ayrıca serbest oksijen radikalleri asiner hücreler üzerine direkt toksik etki de gösterebilirler.

Guice ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada seruleinle induklenen AP'de SOD ve katalazın yararlı etkilerini göstermişler (43). Bu çalışmada sıçanlara tek doz SOD ve katalaz kombinasyonunu serulein infüzyonundan sonra verdiklerinde sadece serulein verilen sıçanlarla karşılaştırıldıklarında, pankreas ağırlığında anlamlı azalma ve pankreas histopatolojisinde iyileşme olduğunu tespit etmişler. Schoenberg ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serulein infüzyonundan 30 dk sonra pankreas dokusu konjuge dienes ve malonildialdehit düzeyinin arttığını, ancak serulein infüzyonuna başlamadan hem önce hemde sonra uygulanan SOD ve katalaz infüzyonlarının lipid peroksidasyonunu, zimogen degranülasyonunu ve doku nekrozunu önlediğini, bununla beraber doku ödemi ve inflamatuvar cevabın etkilenmediğini bildirmişler (44).

Dabrowski ve arkadaşlarının Na-Taurokolat ile indukledikleri AP'de pankreas dokusunda lipid peroksidasyon artışına SOR'nin aracılık ettiğini ortaya koymaktadır(45). Bu araştırmacılar Na-Taurokolat infüzyonunun 3. saatinde pankreas dokusunda SOD aktivitesini düşük ölçerken MDA aktivitesini yüksek ölçmüşler. 12.

saatte ise SOD aktivitesi ölçülememiş olup MDA aktivitesi ise daha da artmış olarak ölçülmüş. Bu deneysel bulguların yanı sıra AP'in SOR'nin hastalığı olduğunu destekleyen bir çalışmayı Kuklinski ve arkadaşları bildirmişler(46). Bu çalışmada AP'li bireylerde yaş cins uyumlu normallere göre daha yüksek MDA düzeyleri saptanırken, MDA düzeylerinin hastalık seyri esnasında ki serum kalsiyum düzeyleri ile ters korelasyon gösterdiğini bulmuşlar. Ayrıca 24 saat içinde yapılan selenyum tedavisinin serum kalsiyum düzeyini normalleştirdiğini ve MDA düzeyindeki artışları azalttığını saptamışlar. Yine bu çalışmada sodyum selenit tedavisi yapılan akut nekrotizan pankreatit'li 8 hasta da mortalité olmamışken, kontrol grubunda ki 9 hastadan 8'nin öldüğü görülmüş (46).

Yine yapılan çeşitli çalışmalarda şiddetli AP atağı geçiren hastalara antioksidan ajanlar verilerek hastalığın tedavisine olumlu katkıları izlenmiş (47).

### **2.2.3 Trimetazidine ve SOR 'i**

TMZ' nin iskemik koşullarda lipid peroksidasyonu azalttığı ve antioksidan kapasiteyi arttırdığı gösterilmiştir. Bir anti-iskemik ajan olup, hipoksik şartlarda sellüler düzeyde koruyucudur. Sellüler iskemi, enerji üretiminin bozulması, hemostazın bozulması ,asidoz, sitoplazmik Na ve Ca birikimi, sellüler yapı ve fonksiyonun bozulmasına yol açan fazla miktarda serbest radikal üretimi ile karakterizedir . Serbest oksijen radikallerinin toksik etkisi membran lipidleri, proteinleri ve nükleik asidin oksidasyonuna bağlıdır. Trimetazidine antioksidan,antiiskemik özelliklerinin yanında serbest radikal temizleyicisi olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (48-49).

Trimetazidine iskemik veya hipoksik ortamda oluşan hücresel değişiklikleri önler. Hipoksik hücrelerde SOR yapımını azaltır, hipoksi sonucu azalan myokardiyal ATP düzeylerini artırır, kardiyak hücrelerde sodyum ve kalsiyum birikimini önler, hücre içi asidozu antagonize eder, hücre dışına potasyum kaybını azaltır. Son yıllarda trimetazidinin siklooksigenaz enzimini bloke ederek araşidonik asit üzerinden tromboksan - A2 sentezini inhibe ederek trombosit adhezyon ve agregasyonunu önlediği de bildirilmektedir (50).

Trimetazidine, doğrudan hemodinamik etkisi olmayan bu ilaç hücresel antiiskemik etki göstermektedir . TMZ; iskemik kalp hastalığında egzersiz toleransını arttırdığı, anjina eşiğini yükselttiği deneysel ve klinik çalışmalarda gösterilmiştir. TMZ, intraselüler asidozu azaltarak, yüksek enerjili fosfatların depleksiyonunu önleyerek, myokardda kalsiyum birikimini azaltarak, nötrofil akümülsiyonunu inhibe ederek ve

reperfüzyon esnasında meydana gelen SOR'nin zararlı etkilerinden myokardı koruyarak kardiyoprotektif etki yaptığı bilinmektedir(51-52).

Trimetazidine, iskemi ve enflamasyon esnasında ortaya çıkan SOR'nin zararlı etkilerine karşı hücreyi koruyarak antioksidan etki göstermektedir. Ayrıca SOR'nin üretiminin inhibisyonunu ve böylece membran lipidlerinin peroksidasyonunu azaltarak hücreyi koruduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (53).SOR'nin eliminasyonunda TMZ'nin etkinliğini ortaya koyan çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada; kalp yetmezliğini provake ettiği, enerji yönünden zengin bileşikleri tüketmek ve SOR'İ üretmek suretiyle mitokondrial fonksiyonu deprese ettiği bilinen bitkisel kaynaklı bir alkaloid olan monokratalin enjeksiyonu yanı sıra TMZ tedavisine alınan ratlarda sadece monokratalin verilen ratlara göre kardiyak yetersizliğin daha hafif geliştiği ve ATP üretiminin arttığı, MDA ile süperoksit oluşumunun önemli ölçüde düştüğü saptanmıştır (52). Benzer bir düşünce ile SOR' i gelişiminin etken olduğu düşünülen doxorubicin'in myokard toksisitesine TMZ'in etkisini araştırdıkları çalışmada, TMZ ile tedavi edilen ratlarda erken kardiyotoksik bulgularda önemli azalma gözlemlenmiştir (53).

Yapılan farklı çalışmalarda; daha önce tek böbreği alınmış ratlarda geliştirilen post iskemik akut böbrek yetersizliğinde TMZ' nin antilipoperoksidan etkisi gösterilmiştir. Beş gün süreyle oral yoldan 2, 5 mg/kg/gün TMZ, diğer gruba ise plasebo verilmiş ve kalan tek böbreğin pedikülünün oklüzyonu ve bunu izleyen reperfüzyondan sonra çıkarılan böbrek dokusunda TMZ alan grupta MDA düzeyinin anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (54-55).

Charlon ve arkadaşları 5 gün süreyle 2,5 mg/kg dozda TMZ ile tedavi edilen sıçanların kalbini, aorttan sabit basınçla perfüze etmişler. Bir total iskemi fazından sonra reperfüzyon yaparak likid azot içinde dondurmuşlar. Bu çalışmada, serbest radikallerin hücresel eliminasyonundan sorumlu temel enzimlerin aktivitesinin değişmediği, ancak TMZ ile tedavi edilen grupta, MDA konsantrasyonunda %17'lik bir azalma olduğu tespit edilmiştir(56).

Bir başka çalışmada ise, tedavi edici dozda TMZ alan sağlıklı gönüllülerden toplanan eritrositlerde, süperoksit anyonları ve diğer SOR'nin hücre membranına etkisinin hafiflediği, lipid peroksidasyon göstergelerinin azaldığı gözlenmiştir (57).

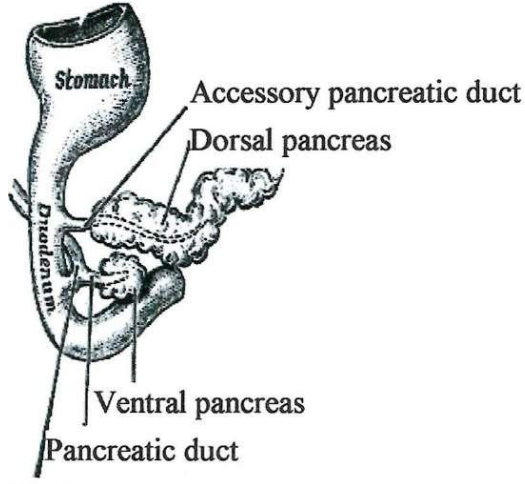
Bizim çalışmamızda güçlü antioksidan, antiiskemik, SOR temizleyici, hücrelerde mitokondri membran stabilizasyonu yaptığı bilinen trimetazidine' in şiddetli

akut pankreatitte nekrozu engelleyici yada zayıflatıcı bir ajan olup olmayacağını ve mortaliteye etkisini değerlendirmektir.

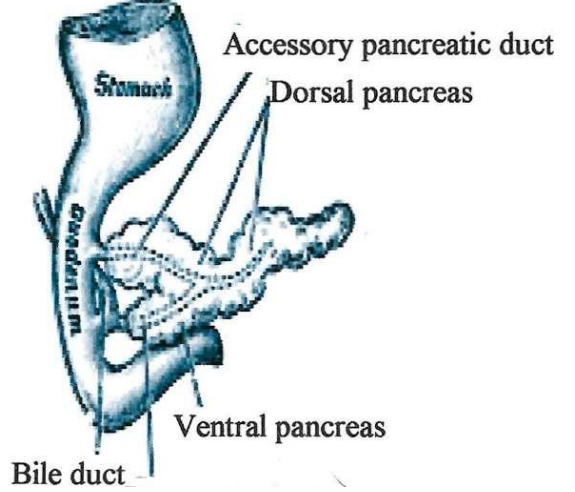
### 2.3 Pankreasın Embriyolojisi

Bütün memeli, kanatlı ve balıklarda pankreas, karaciğer ile birlikte duodenum çevresindeki endodermden köken alır. Bu bölgede ilk olarak şekillenen taslağa hepato-pankreatik halka denir (58-59). Mide, duodenum ve mesenterium ventrale'nin rotasyonu ile birlikte pankreas da karın arka duvarına yerleşir. Intrauterin hayatın 3. ayında ventral ve dorsal pankreas taslakları birleşirler. Başlangıçta her iki pankreas taslağının kendilerine ait boşaltma kanalları vardır. Dorsal taslağın kanalı ductus pancreaticus minör (ductus sontorini, ductus pancreaticus acessorius), ventral taslağınki ise ductus pancreaticus major'dur. Pankreas tomurcukları birleşirken, onlara ait kanallar da birleşir . Ductus pancreaticus (Wirsung kanalı), ventral tomurcuğa ait kanal (ductus pancreaticus major) ile dorsal tomurcuğa ait kanalın (ductus pancreaticus minor) distal parçasından oluşur . Ductus pancreaticus, koledokla birlikte major papilla da duodenuma açılır (63). Dorsal tomurcuğa ait kanalın proksimal parçası da ductus pancreaticus accessorius'u oluşturur. Ductus pancreaticus accessorius, ductus pancreaticus'un açıldığı noktanın 2 cm kraniyalinde bulunan papilla duodeni minor'e açılır. Bu iki kanal insanlarda %9 oranında birleşmez, iki ayrı kanal olarak gelişir (60-61-62).

Pankreasın büyük kısmı dorsal taslaktan gelişir. Pankreasın parankimasını oluşturan ekzokrin ve endokrin hücrelerle duktal hücreler ön bağırsağın endodermal kökenli primitif bağırsak epitelinden gelişir. Bağı dokusu ve kan damarları çevredeki splanknik mezenkimden gelişir. Pankreas tomurcukları endoderminin tubüler bir ağ oluşturma sonucu pankreasın parankiması meydana gelir. Erken fetal dönemde bu tubüllerin uç bölümlerindeki hücre kümelerinden asinuslar gelişmeye başlar. Pankreas adacıkları (Langerhans adacıkları) bu tubüllerden ayrılarak kanal sistemi ile bağlantısını kaybeden bir grup endodermal hücre tarafından oluşturulur (61-62).



**Bile duct(a)**



**Pancreatic duct(b)**

**Resim 1.** İnsan embriyosunda pankreas, a) 5. hafta b) 6. hafta.

## 2.4 Pankreasın Histolojisi

Pankreas endokrin ve ekzokrin salgı yapan birleşik, tubulo-asiner bir bezdir. Endokrin ve ekzokrin salgılama farklı hücre grupları tarafından gerçekleştirilir. Parankimanın büyük bir kısmını (%98-99) ekzokrin hücreler oluşturur. Ekzokrin kısım lobüller içerisine yerleşmiş çok sayıda seröz asinüslerden oluşur. Endokrin hücreler (%1-2) ise tek tek veya adacıklar şeklinde (Langerhans adacıkları) ekzokrin kısım içerisine dağılmışlardır. Bu hücreler sindirimin düzenlenmesi için gerekli olan enzimleri ve hormonları sentezleyip salgılar. Ekzokrin hücreler sentezledikleri enzimleri pankreas kanalları aracılığı ile bağırsağa, endokrin hücreler ise sentezledikleri hormonları kan dolaşımına verirler (64-65-66). Pankreas dıştan oldukça ince bağ dokusu bir kapsülle kuşatılmıştır. Kapsülden bezin içerisine giren ince septalar parankimayı loblara ve lobüllere ayırır. Septalar içerisinde kan ve lenf damarları, sinirler ve interlobuler kanallar seyrederek.

#### 2.4.1 Ekzokrin pankreas

Pankreasın ekzokrin kısmı lobüller içerisinde yerleşmiş çok sayıda seröz asinuslardan, bu asinuslardan başlayan interkalat kanallardan ve bu kanalların açıldığı daha büyük interlobüler kanallardan meydana gelmiştir. Hücrelerin lateral yüzlerinde ise bağlantı kompleksleri mevcuttur. Bu sıkı bağlantı kompleksleri (zonula okludens), zimojen granüllerden asinus lümenine verilen sindirim enzimleri veya öncüllerinin intersellüler alana yayılmasını engeller (67). Pankreasın asiner hücreleri protein sentezleyen hücre özelliğindedir. Rutin histolojik boyama yöntemleriyle hücrelerin bazal kısımları bazofilik boyanır. Bu bazofilik boyanma bazal sitoplazmada bulunan iyi gelişmiş granüler endoplazmik retikulum (GER) ve bol ribozomdan kaynaklanır. Asiner hücrelerin apikal sitoplazmasında membranla sınırlı yuvarlak şekilli zimojen granüller bulunur. Hücrenin fonksiyonuna uygun olarak iyi gelişmiş, supranuklear yerleşimli bir Golgi kompleksi bulunur. Bazal sitoplazmada genellikle hücre uzun eksenine paralel yerleşimli çubuk şeklinde çok miktarda mitokondri izlenir. Pankreas asinuslarının lümeninde sentroasiner hücre olarak isimlendirilen asinus hücrelerine oranla soluk boyanan hücreler görülür. Sentroasiner hücrelerin, asiner hücrelerden ekzositozla lümeneye verilen zimojen granüllerin içeriğinin eritilmesinden ve pankreas sıvısının alkalileştirilmesinden sorumlu oldukları düşünülmektedir(64-65-67-68). İnterlobüler kanallar ana pankreatik kanal (duktus pancreaticus –Wirsung kanalı) ve aksesuar pankreatik kanal(duktus pankreatikus accessorius-Santorini kanalı) olmak üzere iki pankreas kanalına açılırlar. Kanallar ayrı ayrı veya birleşerek duodenuma açılırlar. Salgı boşaltımı Oddi sfinkteri ile kontrol edilir. Duodenuma açılmaya yakın bölgelerde bu kanalların duvarlarında küçük müköz bezler aracılığı ile mukus sekresyonu yapılır (65-67).

Ekzokrin pankreasın salgısı başlıca iki hormon tarafından kontrol edilir. Bu hormonlar duodenum mukozasındaki enteroendokrin hücrelerden salgılanan kolesistokinin (pankrezimin) ve sekretindir. Sekretin, pankreas kanal hücrelerini stimüle ederek bikarbonat konsantrasyonu yüksek, enzim aktivitesi düşük olan bol miktarda pankreatik sıvı salgılanmasını sağlar. Bu sıvı asidik karakterde olan kimusu nötralize eder. Bir miktar sodyum, potasyum, klorür ve bikarbonat içerir. Bu sekresyon ürünü vücuttaki en alkali sıvıdır (pH 7.5 - 8.5). Sindirim sırasında miktarı artmakla birlikte sekresyonu devamlıdır (1500- 3000 ml/24 saat) . Kolesistokinin asiner hücreleri aktive ederek daha az miktarlarda ancak enzim içeriği daha yüksek bir sıvının salgılanmasına yol açar (69). Bu sıvı tripsin, kimotripsin, lipaz, esteraz,

deoksiribonukleaz, ribonukleaz, fosfolipaz A, amilaz, elastaz, karboksipeptidaz A ve B başta olmak üzere yaklaşık 22 farklı enzim içermektedir (67-68-69-70). ). Pankreas sıvısındaki proteolitik enzimlerin bağırsağa geçmeden önce inaktif şekilde olmaları önem taşır. Aksi halde tripsin ve diğer enzimler pankreasın kendisini sindirebilir. Asinuslarda proteolitik enzimleri salgılayan hücreler aynı zamanda tripsin inhibitörü de salgırlar. Bu madde tripsinin hücre içinde, asinuslarda ve pankreas kanallarında aktivasyonunu engeller. Böylece tripsinin diğer proteolitik enzimleri aktive edici özelliği nedeni ile tripsin inhibitörü diğer enzimlerin de aktivasyonunu engellemiş olur (69).

#### **2.4.2 Endokrin pankreas**

Pankreas adacıkları ilk olarak Poul Langerhans tarafından 1893 yılında tanımlanmıştır. Pankreasın endokrin bölümünü oluşturan Langerhans adacıkları ekzokrin pankreas dokusu içerisine gömülmüştür. Toplam pankreas hacminin % 1-2' sini oluşturlar. Çoğu yuvarlak veya oval şekilli, 75-200 mikrometre çapında hücre kümeleridir. İnsan pankreasında kuyruk bölgesinde daha fazla sayıda olmak üzere yaklaşık bir milyon Langerhans adacığı bulunur. H-E boyama yöntemiyle hazırlanmış preparatlarda seröz asinuslar arasında soluk pembe renkte boyanan, poligonal veya yuvarlak şekilli hücrelerden oluşan gruplar şeklinde görülürler. Hücreler arasında zengin kapiller ağı vardır. Langerhans adacıkları ince retiküler liflerden oluşan bir kapsül ile çevre ekzokrin pankreas dokusundan ayrılmışlardır. Langerhans adacıklarında morfolojik, histokimyasal ve immunohistokimyasal boyanma özelliklerine göre en az dört farklı tipte hücre tanımlanmıştır. Bunlar insülin salgılayan hücreler (beta-p), glukagon salgılayan hücreler (alfa-a), somatostatin salgılayan hücreler (delta-S), pankreatik polipeptid salgılayan hücreler (PP) ve gastrin salgılayan (G) hücrelerdir. Bu hücreler otonom sinir sisteminin kontrolü altındadırlar. Sempatik sinirler hücrelerin hormon salgılamalarını baskılarken, parasempatik sinirler salgılamayı artırır(68-69-70)

#### **4.2.1 Beta hücreleri**

İnsülin salgılayan hücrelerdir. Langerhans adacıklarında en çok bulunan bu hücreler toplam hücre sayısının %60-70'ini oluşturur. Adacıkların daha çok merkezi kısımlarına yerleşmişlerdir. Bu hücreler, çevresi soluk, orta kısımları çok köşeli yoğun bir merkeze sahip yaklaşık 300 nm çapında granüller içerirler. Granüller içindeki bu yoğun merkez insülin hormonunun hücre içindeki kristalize şeklidir. Beta hücrelerinin granülleri Gomori boyama tekniği ile mavi renkte boyanırlar. Granüllerin içeriği suda erimez, alkolde erir. Sitoplazmada çok sayıda küçük yuvarlak şekilli mitokondri bulunur (68).

#### **2.4.2.2 Alfa (a) hücreleri**

Glukagon salgılayan hücrelerdir. Genel olarak Langerhans adacıklarının periferinde yerleşmişlerdir. Adacıklardaki toplam hücre popülasyonunun %15-20'sini oluştururlar. Granülleri 250 nm çapında olup, elektron yoğun bir merkez ve bu merkezin dışında daha az yoğun bir halka içerir. Suda eriyen alfa hücre granülleri gümüşleme metodu ile siyah renkte boyanır (71).

#### **2.4.2.3 Delta hücreleri**

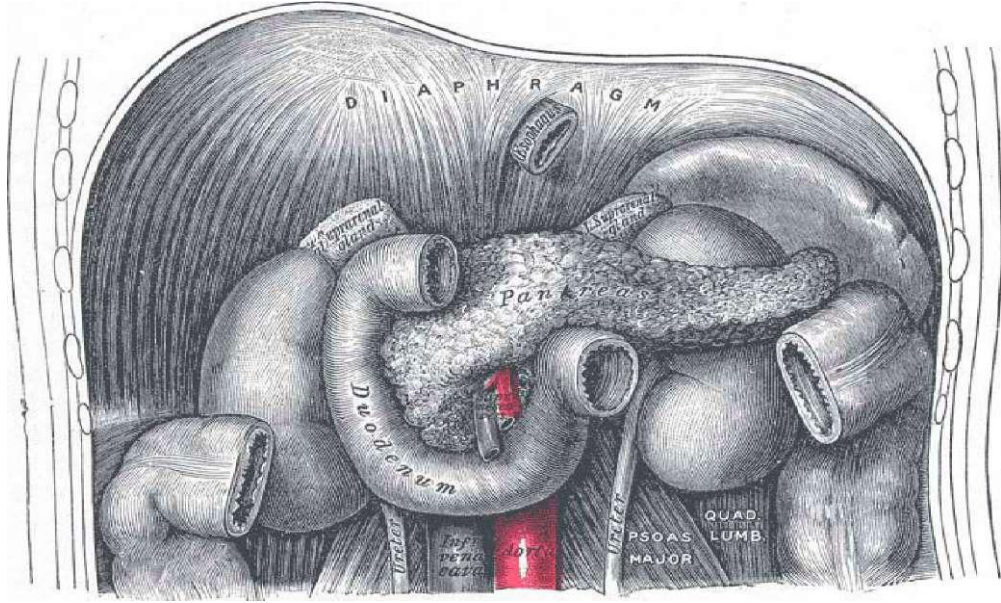
Somatostatin sentezleyen hücrelerdir. Langerhans adacıklarının periferine yerleşen bu hücreler endokrin hücrelerin %5-10'unu oluştururlar. Düşük elektron yoğunluktaki granülleri alfa ve beta hücrelerinin granüllerinden daha büyüktür (300-350 nm) . Nukleusları küçük ve piknotiktir (71).

#### **2.4.2.4 PP Hücreleri**

Pankreatik polipeptid salgılayan hücrelerdir. Pankreasın baş kısmında daha yoğun olarak bulunurlar. Homojen granülleri 140-200 nm çapındadır. Bu hücrelere Langerhans adacıkları dışında, asiner hücrelerin arasında ve pankreatik kanalların epitelinde rastlanabilir (68). Salgıladıkları pankreatik polipeptid pankreasın ekzokrin sekresyonunu inhibe eder, safra kesesinin gevşemesine ve safra salgısının azalmasına neden olur (71).

## 2.5 PANKREASIN ANATOMİSİ

Pankreas, retroperitoneal bölgede 1. ve 2. lomber vertebra hizasında yer almış bir organdır. Karın arka duvarını sağdan sola, hafifçe aşağıdan yukarıya doğru çaprazlayarak duodenal kavisten dalak hilusuna kadar uzanır. Erişkin bir insanda pankreasın uzunluğu 15-20 cm, genişliği 3 cm, kalınlığı 1,5 cm, ve ağırlığı 90 gr kadardır.



**Resim 2:** Pankreasın komşulukları

### 2.5.1 Pankreasın Bölümleri

Pankreas anatomik olarak baş, uncinate process, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere 5 kısma ayrılır.

**BAŞ:** Duodenum kavsi içinde, ikinci lomber vertebranın hemen sağında yer alır. Koledok kanalının son kısmı genellikle pankreas başının içinden geçer. Pankreas başının arkasında distal koledok, sağ böbreğin damarları, vena kava inferior yer alır. Yukarıda portal venden, aşağıda mezenterik vene uzanan hayali bir plan pankreas baş kısmını boyun kısmından ayırır.

**PROCESSUS UNCINATUS:** Portal ven ve superior mezenterik damarların arkasında, aort ve inferior vena kavanın önünde yer alır. Sagital kesitte uncinate process superior mezenterik arter ile aort arasında, sol renal venin üzerinde, duodenumun 3. ve

4. parçasının altındadır. Uncinate process her insanda olmayabilir veya superior mezenterik damarları tamamen çevreleyebilir.

**BOYUN:** Pankreasın nispeten daralmış bir kısmı olup, üstte pilor ve duodenum birinci kısmı, altta vena porta, superior mezenterik ven ve splenik ven bulunur. Genişliği ortalama 2 cm'dir.

**GÖVDE:** Pankreasın gövdesi superior mezenterik damarların solunda yer alır ve duodenumun 4. kıtası, Treitz ligamanı, bazı jejunal anslar, transvers kolonun sol tarafı ile komşudur. Gövdenin üst kenarı sağda çöliak aks ve hepatik arter, solda splenik damarlarla komşudur. Gövdenin ön yüzü omental bursanın arka duvarının pankreas ve mide yüzeyini ayıran çift peritoneal tabakası ile örtülüdür. Bu tabakanın aynı zamanda transvers mezokolon ile de komşuluğu vardır ve iki tabakaya ayrılır; bir yaprağı ön yüzü, diğeri inferior yüzü kaplar. Arka yüzeyi aort, superior mezenterik arter çıkışı, diafragmanın sol krusu, sol adrenal, perirenal fasya, sol böbrek damarları, sol böbrek ve splenik ven ile komşudur.

**KUYRUK:** Splenorenal ligamanın içinde yer alır. Dalak hilusuna kadar uzanır ve nispeten mobildir.

### 2.5.2 Pankreasın Damarları

Pankreas çok zengin bir kan akımına sahiptir. Pankreas arter kanını hepatik, splenik ve superior mezenterik arterlerden alır. Superior pankreatikoduodenal arterin anterior ve superior dalları, superior mezenterik arterin karşılıklı dalları ile birleşmek üzere pankreas başı ile duodenumun medial duvarı arasındaki oluktan aşağı doğru iner. Superior ve inferior duodenal arterler, pankreas dokusu içinde seyrederek ve total pankreatektomi sırasında tamamen kesilirler. Bu damarların kaybı ile belirgin duodenal dolaşım yetmezliği ortaya çıkar ve genellikle iskemik nekroz meydana gelir. Venöz drenaj, splenik ve inferior pankreatik venler yoluyla olur. Kuyruk ve gövde venöz sistemi, küçük venöz damarcıklar yoluyla splenik vene açılır. Bu damarlar frajildir ve

diseksiyon sırasında kolayca yırtılırlar. Bu nedenle pankreasın gövde ve kuyruk rezeksiyonu sıklıkla splenektomi ile birlikte yapılır (72-73).

### **2.5.3 Pankreasın Lenfatikleri**

Lenfatik sistem parankim içinde interlobüler alandan başlayıp küçük kanalcıkları oluşturarak önce pankreas yüzeyine, buradan da bölgesel lenf bezlerine ulaşmaktadır. Lenf kanalları, sıklıkla damarlara paralel olarak seyrederek. Pankreas başının ana lenfatikleri önce ön ve arka pankreatoduodenal lenf bezlerine, daha sonra ise pankreas başının alt bölümündeki lenf bezlerine, barsak lenf kanallarına ve ardından da jukstaaortik ve aort çevresi lenf bezlerine ulaşırlar. Pankreastan çıkan bazı lenfatik kanallar ise direkt olarak lomber lenfatik kanallara, sisterna şiliye veya duktus torasikusa açılabilir.

### **2.5.4 Pankreasın İnnervasyonu**

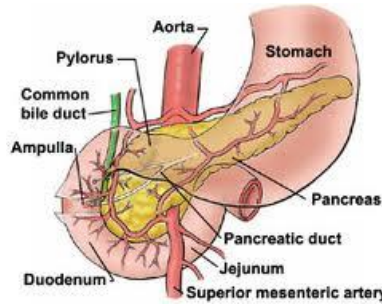
Sempatik ve parasempatik sistem tarafından innerve edilir. Sinirler genellikle varacakları yere damarları takip ederek gider. Çöliak ganglion hem sempatik hem de parasempatik innervasyon merkezidir.

### **2.5.5 Pankreasın Kanalları**

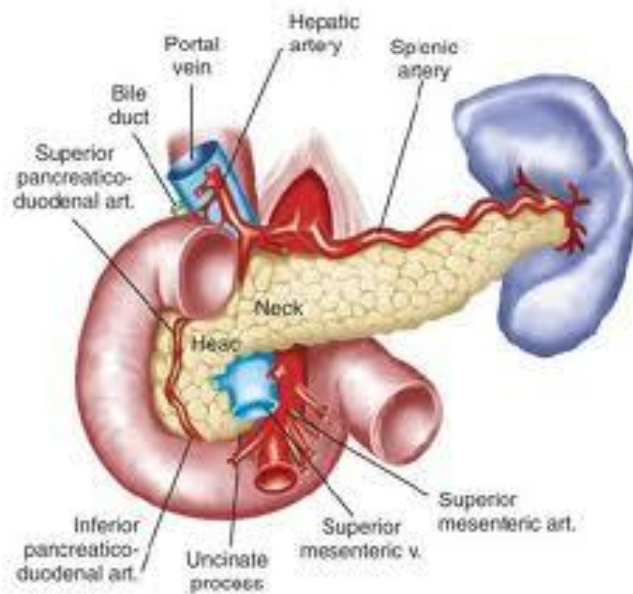
Pankreasın ana kanalı olan Wirsung, organın kuyruk kısmından başlayıp, sağa doğru gövde, boyun ve baş kısmını geçerek Papilla Vateri'ye ulaşır. Yaklaşık 15-20cm uzunluğunda 3-3.5mm çapındadır ve 15-20 kanalcık, bu kanala açılır. Santorini olarak isimlendirilen aksesuar kanal ise baş kısmını drene eder ve daha kısadır. %60 vakada her iki kanal duodenuma açılır. % 30 vakada Wirsung kanalı tüm sekresyonları taşır ve Santorini kör uçla sonlanır. % 10 vakada Santorini tüm sekresyonları taşır, Wirsung küçük veya yoktur (72-73).

### 2.5.6 Ratlarda Safra Yolu Anatomisi

Sıçanda pankreas dalak ile midenin büyük kurvaturunun alt bölümü, duodenum kavsi ve ileumun üst kısmı arasında mezenter içerisinde yayılmış loblar halinde yer alır. Safra kanalı duodenuma gelmeden önce bir süre pankreasta yol alır ve bu sırada pankreastan gelen ortalama 10-15 kanal burada safra kanalına açılır. Daha sonra ortak ve tek kanal halinde duodenuma dökülerek biliopankreatik kanal adını alır. Bu kanal tam duodenuma girdiği yerden bağlanırsa, pankreas sıvısı duodenuma geçemez ve pankreas kanallarına safra reflüsü olur (74)



**Resim 3:** Pankreasın Anatomisi



**Resim 4:** Pankreasın Damarları

## 2.6 Sınıflandırma

**Akut pankreatit:** Diğer bölgesel dokuların ve uzak organ sistemlerinin farklı derecelerde etkilenmesi ile birlikte pankreasın akut inflamasyonu olarak tanımlanmıştır.

**Hafif akut pankreatit:** Minimal organ disfonksiyonu gözükmesine rağmen sonuçta tam iyileşme olmaktadır. Kontrastlı bilgisayarlı tomografide pankreas parenkimi normal kontrastlanma gösterir.

**Ağır akut pankreatit:** Organ yetmezliği ve/veya nekroz, abse veya psödokist gibi lokal komplikasyonların bulunmasıdır. Ranson kriteri >3 veya APACHE II skoru > 8 dir.

## ORGAN YETMEZLİĞİ VE SİSTEMİK KOMPLİKASYONLAR

**Şok:** Sistolik kan basıncının <90mmHg

**Akciğer yetmezliği:** PaO<sub>2</sub> < 60mmHg

**Böbrek yetmezliği:** Kan kreatinin seviyesinin hasta hidrate edildikten sonra 2mg/dl'den yüksek olması

**Gastrointestinal kanama:** 24 saat içinde 500cc'den fazla olması

**Dissemine İntravasküler Koagulopati(DIC):** Trombositlerin 100.000/mm<sup>3</sup> altında olması, fibrinojenin 1 g/l' den az olması ve fibrin yıkım ürünlerinin 80 ng/ml den fazla olması

**Şiddetli metabolik bozukluklar:** Kan kalsiyumunun 7. 5 mg/dl ya da daha az olması

## LOKAL KOMPLİKASYONLAR

**Akut sıvı kolleksiyonu:** Akut pankreatitin erken safhasında görülür. Pankreas içinde veya çevresinde olabilir. Bu sıvı kolleksiyonu çevresinde fibröz doku ve granülasyon dokusu bulunmaz. Hastaların yarısında spontan olarak gerilerken, diğer yarısında pankreas absesi veya psödokiste dönüşür.

**Pankreas nekrozu:** Pankreas dokusunun diffüz veya fokal olarak canlılığını kaybetmesidir. Çoğu zaman peripankreatik yağ nekrozu ile beraberdir. Kontrastlı BT' de tanımlanır. 3cm'den daha geniş veya tüm pankreasın %30'undan daha fazla, kontrast tutmayan pankreas dokusunun bulunması pankreatik nekrozdur.

**Akut psödokist:** Pankreatik sıvı kolleksiyonunun fibröz veya granülasyon dokusundan oluşan bir duvar ile çevrilmesidir. Akut pankreatit, pankreas travmaları veya kronik pankreatit sonrası oluşabilir. Semptomların başlangıcından en az 4 hafta sonra oluşmaktadır. Yuvarlak veya ovoid olup çoğunlukla sterildir. Püy içerdiğinde lezyon pankreas absesi olarak adlandırılır.

**Pankreatik abse:** Genellikle pankreas komşuluğunda çevrelenmiş, içinde püy olan intraabdominal koleksiyondur, içinde çok az pankreatik nekroz alanları bulunabilir veya bulunulabilir. Akut pankreatit veya pankreatik travma sonrası gelişebilir

## 2.7 Klinik

En sık görülen yakınma karın ağrısıdır. Ağrı epigastriumda hissedilir, daha çok künttür ve sırta vurur.

Bulantı ve kusma, vakaların %80'inde vardır. Nazogastrik tüp takılması kusmanın devamını engeller.

Olguların %60-90'ında orta derecede artmış ateş vardır. Periumbilikal bölgede (Cullen belirtisi), lomber boşluklarda (Grey-Turner belirtisi), inguinal ligamentin altında (Fox belirtisi) ekimozlar retroperitoneal kanamanın göstergeleri olup, %1-3 oranında gözüken nadir lezyonlardır.

Paralitik ileus, sarılık, iştahsızlık hastalığın klinik seyrinde yer alır. Hastaların fizik muayenelerinde lokalize ya da genel karın hassasiyeti, abdominal distansiyon, taşikardi, hipotansiyon, palpabl abdominal kitle ile konfüzyon, psikoz ve koma gibi psişik bulgular saptanabilir.

Akut pankreatitte hastalığın şiddeti ile fizik muayene bulguları arasında her zaman paralellik yoktur ve şiddetli pankreatit atağı geçiren bir hastadaki fizik muayene bulguları, hafif pankreatit atağı geçiren bir diğerine göre daha silik olabilir(75-80).

### 2.7.1 Laboratuvar Yöntemleri

Akut pankreatit tanısında kullanılan çok sayıda biyokimyasal parametre mevcuttur.

**Serum Amilazı:** Akut pankreatit tanısında en çok kullanılan testtir. Hassasiyeti %75-92 ve özgünlüğü %20-60'dır. Akut atağın başlamasıyla ilk 2-12 saat içerisinde hızla yükselir ve 3-5 gün içinde normal değerine döner.

**Serum Lipazı:** Pankreas vücuttaki lipazın ana kaynağı olması sebebiyle amilazdan daha güvenilirdir. Sensivitesi %85-100 oranındadır. Serum lipazı semptomların başlamasından 4-8 saat içinde yükselmeye başlar ve 8-14 gün sonrasında normale döner. Serum lipaz yüksekliği amilaz yüksekliğinden daha uzun süre yüksek kaldığı için klinik tanısı geç konan hastalarda daha yararlı bir parametredir (81).

**CRP:** İnflamatuvar olaylarda akut faz reaktanı olarak nonspesifik bir markır olarak yükselir. Hasarın oluşmasından 24-48 saat içerisinde yükselir. Ağır AP ataklarında 150 mg/fın üzerine çıkar. Yüksek seviyede olması pankreas nekrozuna işaret edebilir (76).

**Serum kalsiyum düzeyi:** AP' li hastaların 1/3'ünde geçici hipokalsemi görülür. Ağır AP'de çok düşük seviyelerde de görülebilir (<7mg/dl). Tetani veya miyokard depresyonu nadiren görülür. Kalsiyumun düşmesi yağ nekrozu alanlarında sekestrasyonuna ya da gelişen hipoalbüminemiye bağlıdır. Ancak deiyonize kalsiyum da düşer. Bu nedenle yağ nekrozlarındaki sekestrasyon olayı tam olarak açıklayamaz (77).

**Diğer laboratuvar tetkikleri:** Akut pankreatitin gerek etyolojisinin araştırılmasında gerekse de seyrinin takibinde kullanılan bazı biyokimyasal parametreler vardır. Bunlar tam kan sayımı, AST ve ALT, alkaleli fosfataz, bilirubinler, kan şekeri, kan üre ve kreatinini, serum elektrolitleri ve tanısal periton lavajı sıvısının incelenmesidir (78-79).

### 2.7.2 Radyolojik Tanı

**Düz Grafiler:** Akut pankreatitte toraks grafisinde solda bazal ateletazi, diyafragma yükselmesi ve plevral effüzyon saptanabilir. Ayakta direkt batın grafisinde ise pankreasın inflamasyonunun oluşturduğu lokal ileus ile duodenumda hava görüntüsü, jejunumda gaz gölgesinin olduğu 'sentinel lup' ve kolonda sol tarafta hava yokken sağda geniş kolonik gazın olduğu 'cut-off' belirtileri görülebilir (20).

**Batın USG:** Ucuz ve noninvazif olması, yatak başında her an yapılabilmesi nedeniyle özellikle takip açısından çok yararlıdır. USG' nin AP'deki tanı değeri %75-85'dir. USG özellikle pankreatite eşlik eden safra yolları hastalıklarının tanısında çok yardımcı olmaktadır (80).

### **Bilgisayarlı Tomografi ve Magnetik Rezonans**

Bilgisayarlı tomografi (BT), akut pankreatit tanısında ve özellikle nekrozun görüntülenmesinde en yararlı yöntemdir. Pankreatik ödem, peripankreatik sıvı kolleksiyonları, inflamasyon, safra yollarındaki taşlar, safra kanalı genişliği, pnömoperiton, abse, hemoraji saptanabilir (80).

## **2.8 Deneysel Akut Pankreatit Modelleri**

Akut pankreatitin farklı özelliklerini araştırmak için farklı modeller kullanılabilir. Hangi model kullanılırsa kullanılsın etyoloji, morfoloji, fonksiyonlar, komplikasyonlar, mortalite ve tedaviye yanıtlar açısından insan pankreatitine benzer özellikte olmalıdır. Mevcut modeller şöyle sıralanabilir:

**Tablo 4: Deneysel akut pankreatit modelleri**

|                                                                          |                                                                                   |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| 1-Diyet ile oluşturulan modeller(kolinden fakir etyoninden zengin diyet) | 6-İmmunolojik modeller                                                            |
| 2-Sekresyon uyarıcı ile oluşmuş modeller(serulein,alkol,akrep zehiri)    | 7-Toksinlerle oluşturulan modeller                                                |
| 3-Duktus ligasyon bölümleri                                              | 8-Moleküler biyolojik modeller                                                    |
| 4-Kapalı duodonal ans modeli                                             | 9-Duktus enjeksiyon modelleri(Glukodeoksikolik asit(GDOC), Na-Taurokolat, safra ) |
| 5-Vasküler modeller(mikrosferler)                                        | 10-Boston modeli(düşük doz GDOC+intravenöz serulein enjeksiyonu)                  |

Model seçimi etyoloji, morfoloji ve hayvan türü dikkate alınarak yapılmalıdır. Genel olarak diyet veya sekresyon uyarıcı ile oluşturulmuş pankreatit, akut alkolik pankreatite benzerken, duktus ligasyon veya injeksiyon modellerinin safra taşı pankreatitine benzer tablo oluşturduğu kabul edilir. Öte yandan serulein stimülasyonu ve duktus ligasyon modellerinin bazıları ödematöz pankreatit için iyi bir model olurken, kolinden yoksun diyet ve duktal injeksiyon nekrotizan pankreatit için uygundur.

Sıçanlarda safra kesesi bulunmaz. Safra kanalı duodenuma açılmadan önce 1-2 cm pankreas dokusu içinde yol alır. Bu sırada pankreastan gelen ortalama 10-15 pankreatik kanal, safra kanalına birleşir. Ana pankreatik kanal ile de birleşen safra kanalı, ortak ve tek kanal halinde duodenuma açılır. Bu kanal birleşik biliopankreatik kanal (BPK) olarak adlandırılır. BPK, duodenuma açıldığı yerden bağlanacak olursa, pankreas sıvısı ve safra duodenuma akamaz, pankreas kanallarına safra reflüsü olur.

### **2.8.1 Biliopankreatik kanal injeksiyon modeli**

Hayvanlarda pankreatik kanala birçok farklı madde infüze edilerek akut pankreatit oluşturulabilir. Bunlar:

1-Uyarıcı ve toksik maddeler: safra asitleri{taurokolat veya GDOC ( glikodeoksikolik asit)}, etil alkol

2-Prooksidan maddeler: perasetat, terbütıl hidroperoksid

Duodenotomiye takiben, pankreas kanalına safra tuzlarının retrograd injeksiyonu ağır akut pankreatit oluşmasına sebep olur. Bu modelde pankreas kanalı duodenum duvarı üzerinden kanüle edilir, safra kanalı karaciğer hilusuna yakın yerden geçici olarak kapatılır ve pankreas kanalına yabancı madde retrograd olarak yavaşça verilir. Hastalığın şiddeti, kullanılan safra tuzlarının konsantrasyonu veya uygulanan basınç değişiklikleriyle ayarlanabilir. GDOC'in düşük konsantrasyonda infüze edilmesi bilier ödematöz akut pankreatit oluştururken, yüksek konsantrasyonda (34mM) verilmesi nekrotizan akut pankreatit oluşturur. Na-taurokolatın %3-%6 oranlarında verilmesi ağır akut pankreatit oluşturmak için yeterlidir. Akut pankreatit 2-24 saat içinde gelişir ve ödem, nekroz ve hemoraji ile karakterizedir. Hayvanlarda pankreatik kanala safra tuzlarının retrograd injeksiyonu, ağır akut pankreatit oluşturması açısından kolay, efektif ve tekrarlanabilir bir modeldir. Bu model aynı zamanda psödokist, pankreatik abse ve yağ doku nekrozu oluşturma çalışmalarında da kullanılabilir.

### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1 Deney Hayvanları**

Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışmada, ağırlıkları 230-300 gr (ortalama 265 gr) arasında değişen 43 adet Sprague-dawley cinsi dişi rat kullanıldı. Hayvanlar deneyde kullanılmadan 10 gün önce tek tek kafeslerde su kısıtlaması olmadan standart yem ile beslenip, ortam koşullarına uyum göstermeleri sağlandı. Sıçanlar sabit ısıda 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda barındırıldı.

#### **3.2 Çalışma Grupları**

Sunulan çalışmada 43 adet Sprague Dawley tipi rat, 4 grupta kullanılacaktır.

Grup1(n:6) : Sham grup(sadece laparotomi yapılan grup)

Grup 2(n:6): Kontrol grubu(işlem yapılmamış grup)

Grup 3(n:16): Pankreatit model grubu grubu (Na-Taurokolik asit ile akut pankreatit oluşturulan grup)

Grup 4(n:15): Pankreatit + Trimetazidine tedavi grubu (Na-Taurokolik asit ile akut pankreatit oluşturulup, Trimetazidine verilen grup)

### 3.3 Yöntem

Sıçanlar deneyden 8 saat önce aç bırakıldı ancak su alımları kısıtlanmadı. Denekler 20mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 5mg/kg Xylazine HCL (Alfazyne® %2, 20mg/ml,30 mi, Alfasan İnt.B.V., Hollanda) intraperitoneal verilerek uyutuldu. Uygun ortam ısısında ve saha temizliği (%10'luk Povidon İyodür (Batticon® solüsyon, Adeka, Türkiye) yapıldıktan sonra steril örtümü takiben orta hat 3 cm' lik kesi ile batına girildi. Akut pankreatit oluşturulacak hayvanlarda (Grup 3 ve 4) laparotomiye takiben, daha önce tarif edildiği gibi duktus injeksiyon modelini oluşturmak için, biliopankreatik kanal (BPK) bulundu. Duodenum duvarı antimezenterik alandan 24-gauge kateter (İntrocan-w, Braun, iç çapı 7 mm) ile delinip ortak biliopankreatik kanala doğru ilerletilip kanülize edildi. İntrahepatik safra yollarına olan reflüyü önlemek için koledok geçici olarak karaciğer hilusuna yakın yerden plastik buldok ile klemp konuldu. Duodenal içeriğin de BPK' a olan reflüsünü engellemek için mikroanevrizma klipsi BPK'm duodenuma yakın yerine yerleştirildi, %5'lik Na-Taurokolik asit (Sigma, St. Louis, MO, USA) 0.15ml/kg olacak şekilde ortak biliopankreatik kanala kateter yardımıyla 3 dakika boyunca infüzyon şeklinde verildi. İnfüzyon tamamlandıktan sonra, BPK'nın proksimalindeki plastik buldok alındı. Duodenumdaki delik 6/0 polipropilen (Prolene ® ,Ethicon) ile tek primer sütürle kapatıldı. Karın duvarı ve cilt, 3/0 ipek (Mersilk®, Ethicon) sütür ile kapatıldı (Resimler 3.3.1-3.3.6).

Ameliyat sonrası ratlar hergün orogasrik olarak Trimetazidine ile beslendi. Postoperatif olarak sıçanlara su ve standart yem başlandı(83).

### 3.4 Örneklerin Alınması

Tüm denekler cerrahi işlemiden 72 saat sonra 20mg/kg Ketamin HCl ve 5 mg/kg HCL intraperitoneal verilerek uyutuldu. İntrakardiyak yöntemle 5 cc kan alınımını takiben, tüm denekler yüksek doz anestezi madde ile sakrifiye edilip, sistemik nekropsı uygulandı. Alınan kan örnekleri kardiyak ponksiyonun hemen sonrasında heparinli biyokimya tüplerine alınıp 18°C-22°C' de muhafaza edilerek, AST, ALT, LDH, Amilaz, Lipaz bakılmak üzere uygun koşullarda biyokimya laboratuvarına nakledildi.

Her bir sıçandan histopatolojik, biyokimya inceleme için alınan pankreas, karaciğer, böbrek, ileum ve akciğer doku örnekleri %10 formalin solüsyonu içinde Patoloji ve Biyokimya laboratuvarına gönderildi.

Resim 5



Resim 6



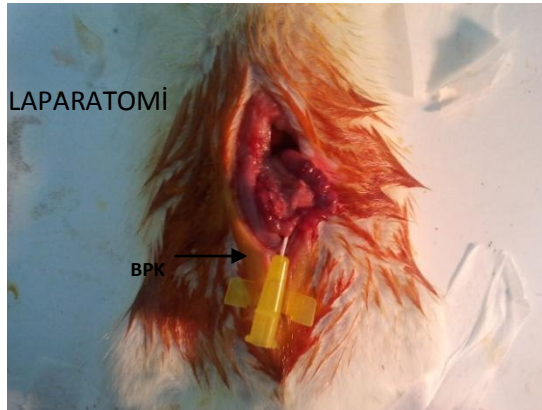
Resim 7



Resim 8



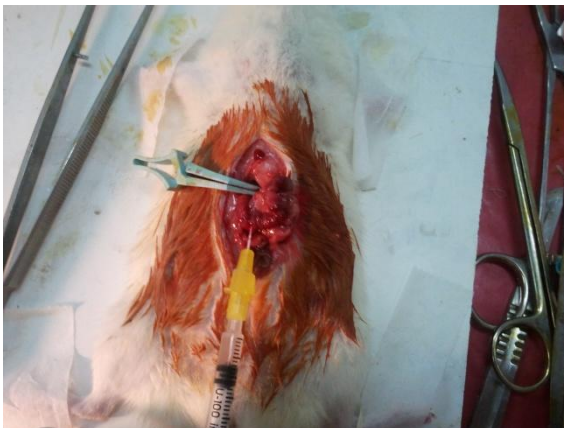
Resim 9



Resim 10



Resim 11



Resim 12



### 3.5 Sonuçların Değerlendirilmesi

Ratların çıkarılan pankreas dokusu Schmidt ve arkadaşlarının kullandığı skorlama sistemine göre histopatolojik olarak değerlendirildi(Tablo-4). Histopatolojik inceleme için alınan pankreas dokusu örnekleri % 10'luk formaldehit ile 48 saat tespit edildi. Tespit işlemini sonrasında pankreas dokusu örnekleri rutin histolojik doku takip prosedüründen geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 6 µm kalınlığında kesitler hazırlandı. Lamlar üzerine alınan kesitler hematoksilen – eozin (H-E) ile boyandıktan sonra Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz Sistemi (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) ile incelenerek fotoğraflar çekildi. İncelenen pankreas dokusu kesitlerinde lökosit (mononukleer ve polimorfonukleer) infiltrasyonu, asiner nekroz, interstisyel ödem ve hemoraji maksimum toplam skor 12 (Yok = 0, hafif = 1, orta derecede = 2, şiddetli ve yaygın = 3) olacak şekilde skorlandı.

#### 3.5.1 Kaspaz-3 ölçümü

Pankreaslara 2mg/mL kollejenaz tip 4 (Sigma) içeren RPMI-10 (RPMI-1640+%10 Fetal Bovine Serum) besiyeri enjekte edildi. Enjeksiyon sonrası 37oC de 20-25 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda organlar küçük parçalara bölünerek tek hücre süspansiyonu elde edilene kadar işlendi. Hücrelerin canlılık düzeyi trypane mavisi kullanılarak ışık mikroskopunda tespit edildi. Canlılık düzeyi %90 üzeri olan süspansiyonlar kaspaz -3 ile boyama amacıyla kullanıldı.

İzole edilen hücrelerde apoptozis düzeyini ölçmek amacıyla phycoerytrin ile işaretli anti-kaspaz-3 antikorı kullanıldı ( BD PHarmingen, U.S.A). Hücreler 2x10<sup>6</sup>/mL. konsantrasyona getirildi ve hücre membran bütünlüğünü bozan BD Cytotfix/cytoperm solusyonu ile buz üzerinde 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda hücreler 1400 rpm de 10 dakika santrfüj edildikten sonra süpernatant atıldı ve pellet hücre süspansiyonu BD Perme/Wash solusyonu ile çözülüp, hücreler iki defa yıkandı. Yıkama sonrasında hücreler Pe-işaretli aktif kaspaz-3 antikorı ile işaretlemek için 30 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda hücreler BD Perme/Wash solusyonu ile yıkandı ve analiz öncesi 500µL. BD Perme/Wash solusyonu ile süspanse edilerek akım sitometride ( BD FACSCanto II, U.S.A ) analiz edildi.

### 3.5.2 Biyokimyasal değerlendirme

Deneyden bir gün önce derin dondurucudan çıkarılan dokularının bir kısmı MPO ve hidrokspirolin analizi için tekrar derin dondurucuya kaldırıldı ve bir kısmı da bir gece süreyle buzdolabında (+4 C°) bekletilerek buzlarının çözülmesi sağlandı. Ertesi gün dokular soğuk SF ile yıkandı. Kurutma kâğıdı ile kurulan dokular sonra tartılarak her bir örneğin yaş doku ağırlığı kayıt edildi. Homojenizasyon öncesi bistüri yardımıyla yaklaşık 0,3–0,5 gram ağırlığında küçük parçalara ayrılan doku örnekleri, içi buz dolu taşıma kaplarına yerleştirilmiş cam tüplere aktararak soğukluğu muhafaza edildi. Daha önce ikiye ayrılmış olan dokuların bir bölümünün üzerine soğuk 2 mL Tris-HCl tamponu (pH 7,4, 0.2 mM) eklenerek homojenizatörde 16000 devir/dakika hızda 2 dakika süreyle homojenize edildi. Homojenat üzerine 1 mL daha tampon ilave edildi ve 1 dakika süreyle tekrar homojenize edilerek süre 3 dakikaya tamamlandı. Homojenat vorteksledikten sonra eppendorf tüplere aktarıldı ve bu homojenatlarda MDA, PC ve protein tayinleri yapıldı. Homojenatların bir bölümü, 1 saat süreyle 2200xg'de +4 C° soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Ayrılan süpernatantlar SOD, CAT, GSH-Px ve protein tayinlerinde kullanıldı.

#### 3.5.2.1 Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite tayini

**Kullanılan reaktifler :** Substrat solüsyonu [0,3 mmol/L ksantin, 0,6 mmol/L. Na<sub>2</sub>EDTA, 150 µmol/L NBT(Nitro blue tetrazolium), 400 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1 g/L sığır serum albümini (BSA)], ksantin oksidaz (XO:167 Ü/L), 2M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,8 mmol/L CuCl<sub>2</sub>

Süperoksit dismutaz aktivitesi Sun ve arkadaşları tarafından tanımlanan NBT indirgeme yöntemiyle çalışıldı. Bu metotta, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbanans verir. Enzimin olmadığı ortamda meydana gelen indirgenme mavi-mor renk oluşturmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise NBT indirgenmesi tam olmayıp enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmakta, buradan aktivite hesabı yapılabilir. Bir SOD ünitesi; NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir(84).

### 3.5.2.2 Katalaz (CAT) enzim aktivite tayini

**Kullanılan reaktifler:** Fosfat tamponu (pH 7.0, 50 mM) ve fosfat tamponu kullanarak absorbansı 0.500 nm'ye ayarlanmış olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi

Katalaz aktivitesi Aebi'nin metoduna göre çalışıldı. 240 nm'de maksimum absorbans veren H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> deney ortamına ilave edilen katalaz aktivitesiyle su ve oksijene parçalanır. Bu durum uv spektrumunda absorbans azalmasına neden olup absorbanstaki azalma CAT enziminin aktivitesi ile doğru orantılıdır. Bir CAT ünitesi: Birim zamanda bir mikromol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i suya çeviren enzim miktarıdır(85).

### 3.5.2.3 Glutatyon-peroksidaz (GSH-Px ) enzim aktivite tayini

**Kullanılan reaktifler:** 150 mM redükte GSH, 8 mM NADPH, 1 M NaN<sub>3</sub>, enzim [1,5 mL 3,2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 50 µL GSH-redüktaz], 2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fosfat tamponu (50 mM, pH:7,5).

GSH-Px aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı. GSH-Px hidrojen peroksit varlığında redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG)'a yükseltgenmesini katalizler. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GSH-Px 'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH'ın NADP<sup>+</sup>'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplanır.Enzim ünitesi; birim zamanda okside olan mikromol NADPH miktarıdır(86).

### 3.5.2.4 Tiyobarbitürik asit rea. Mad. (TBARS) miktarının tayini

**Kullanılan reaktifler:** % 0,675 tiobarbitürik asit (TBA) çözeltisi, %10 triklorasetikasit (TCA) çözeltisi ve 20 mM/L 1,1,3,3- tetrametoksipropan (standart).

Esterbauer ve Cheeseman'nin metodu ile çalışıldı. En çok kullanılan lipid peroksidasyon tayin yöntemidir. Asidik ortamdaki tiyobarbitürik asit ile 90–95 C° de reaksiyona giren malondialdehit (MDA) ve diğer TBARS, pembe renkli kromojen meydana getirir. Onbeş dakika kaynatıldıktan sonra hızla soğutulan numunelerin absorbansları 532 nm de spektrofotometrik olarak okundu(87).

### 3.5.2.5 Protein karbonil (PC) tayini

**Kullanılan reaktifler:** %10–20 TCA (trikloroasetik asit), 2 N HCl, 10 mM DNPH (2,4-dinitrophenylhydrazine), etanol/etil asetat (1:1, v/v) çözeltisi, 6 M guanidin hidroklorid

Levine ve arkadaşlarının metodu ile çalışıldı. Dilüe edilmiş proteinler, soğuk trikloroasetik asit (TCA, %20) ile çökteldikten sonra 3-5 dakika santrifüj edildi. 2 N HCl'de 10 mM DNPH'ın (2,4-dinitrophenylhydrazine) solisyonu her bir nümunenin protein pelletine eklenerek 1–2 mg/ml protein konsantrasyonu elde edildi. Numuneler oda ısısında 1 saat karanlıkta bekletilip her 10 dakikada bir vortekslendi. Daha sonra %10–20 TCA ile çökteltilip 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atılıp ve protein pelletleri %10-20 TCA ile bir kez daha yıkandı. Kalan DNPH'ı uzaklaştırmak için 1 ml etanol/etil asetat (1:1, v/v) ile 3 kez yıkanıp, numuneler 6 M guanidin hidroklorid içinde 37 C° 'de 15 dakika çalkalayıcıda yeniden askıya alındı. Karbonil içeriği 366 nm absorbandsda tespit edildi(88).

### 3.5.2.6 Nitrik oksit (NO) miktarına tayini

**Kullanılan reaktifler:**Kadmiyum (Cd) granülleri,Glisin-NaOH tamponu(0.2mol/L,pH:9.7),0,77 mmol/L N-nafiletilendiamin(NNDA),58 mmol/Lsülfanilamid ,5mmol/L CuSO4,0.1mol/L H2SO4,standart solüsyonu ,55mmol/L NaOH,75 mmol/L ZnSO4 kullanıldı.

Dokuda total nitrit miktarı deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlendi.Bu metoda total nitrit konsantrasyonu modifiye kadmiyum redüksiyonu metodu ile değerlendirilir.PH:9.7 glisin tamponunda bakır kaplı kadmiyum granülleri,deproteinize numune süpernatantı ile 90 dakika,aralıklı karıştırarak inkübe edilir.İnkübasyon sonunda nitratın tamamı nitrite redüklenir.Üretilen total nitrit,sülfanilamid ve N-nafiletilendiamin(NNDA) diazotizasyon reaksiyonu ile oluşan pembe rengin 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile belirlenir(89).

Ratların kan örneklerinde serum Amilaz, Lipaz, LDH, AST ve ALT Analizleri İnönü Üniv. Turgut Özal Tıp Merkezi Merkez laboratuvarında Abbott Aeroset Otoanalizör sistemlerinde aynı markanın kitleriyle çalışıldı.

### **3.6 İstatiksel Yöntem**

Çalışmada elde edilen sonuçlar ortalama + standart sapma olarak verildi. Çalışmada istatistiksel değerlendirme için kullanılan veriler, grup sayısı ikiden fazla olduğu için tek yönlü varyans analiz testi(Anova) seçildi. Grupların ikili karşılaştırılmasında ise Man Whitney U testi kullanıldı.  $P<0,05$  değeri en düşük anlamlılık değeri olarak kabul edildi.

Histolojik verilerin karşılaştırılması Kruskal-Wallis H testi ile yapıldı. Önemli farklılık bulunduğunda, grupların çoklu karşılaştırılmaları conover testi ile yapıldı.  $P<0.05$  değerleri önemli kabul edildi.

## **Tablo 5:Histolojik Skorlama Sistemi**

### **ÖDEM**

0-Yok

1-İnterlobar septalarda fokal genişleme

2--İnterlobar septalarda diffüz genişleme

3--İnterlobar septalarda diffüz interasiner septalarda fokal genişleme

4--İnterlobar septalarda diffüz interasiner ve septalarda diffüz genişleme

5-Hücreler arası mesafede genişleme

### **ASİNER HÜCRE NEKROZU**

0-Yok

1-1,4 nekrotik hücre

2-5,10 nekrotik hücre

3-11,16 nekrotik hücre

4-16 dan fazla nekrotik hücre

## HEMORAJİ

0-Yok

1-Bir alanda

2-iki alanda

3-Üç alanda

4-Dört alanda daha fazlasında

## İNFLAMASYON VE PERİVASKÜLER İNFİLTRASYON

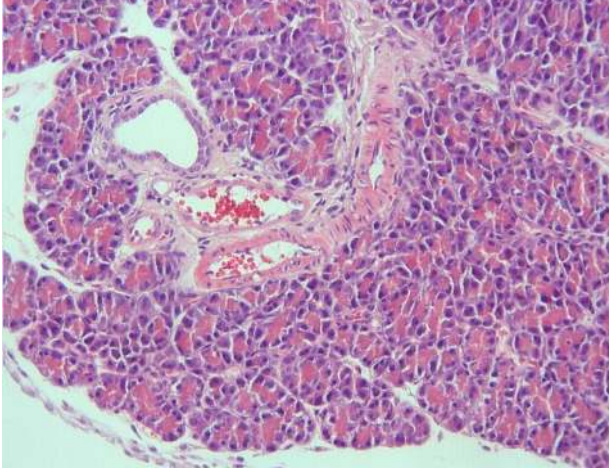
0-0,1 interlobüler veya perivasküler lokosit

1-2,5 interlobüler veya perivasküler lokosit

2-6,11 interlobüler veya perivasküler lokosit

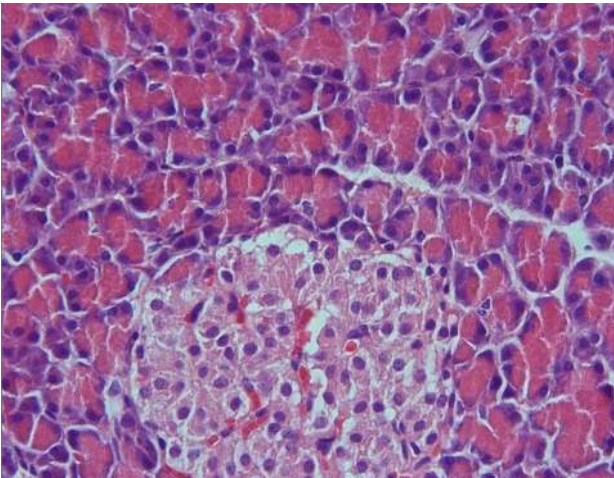
3-12,20 interlobüler veya perivasküler lokosit

4-20 den fazla lokosit veya yaygınmikroapseler



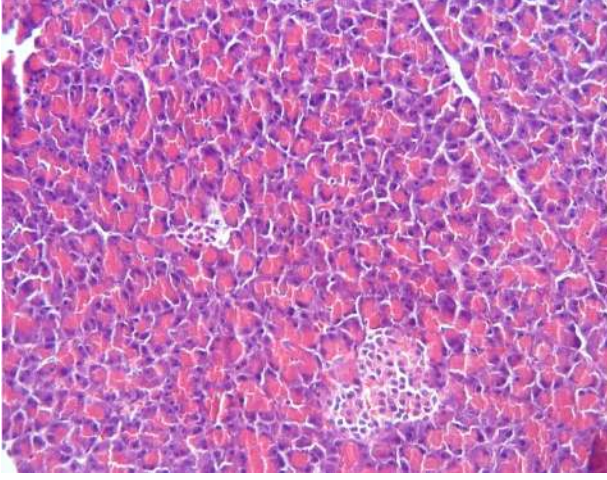
Resim 13

**Kontrol grubu;** Normal histolojik görünümde ekzokrin pankreas. H-E, x20.



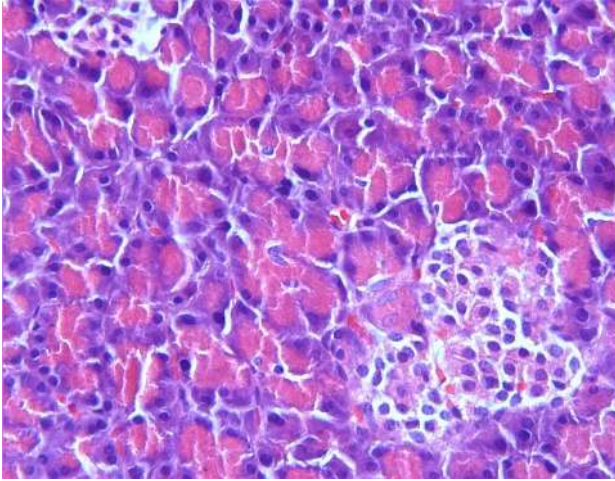
Resim 14

**Kontrol grubu;** Normal histolojik görünümde ekzokrin ve endokrin pankreas. H-E, x40.



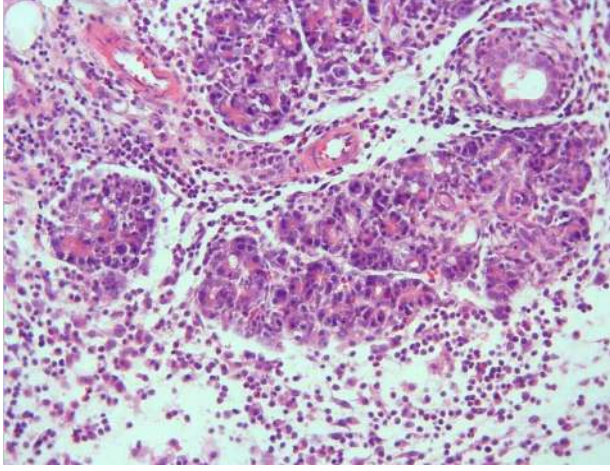
Resim 15

**Sham grubu;** Normal histolojik görünümde ekzokrin ve endokrin pankreas. H-E, x20.



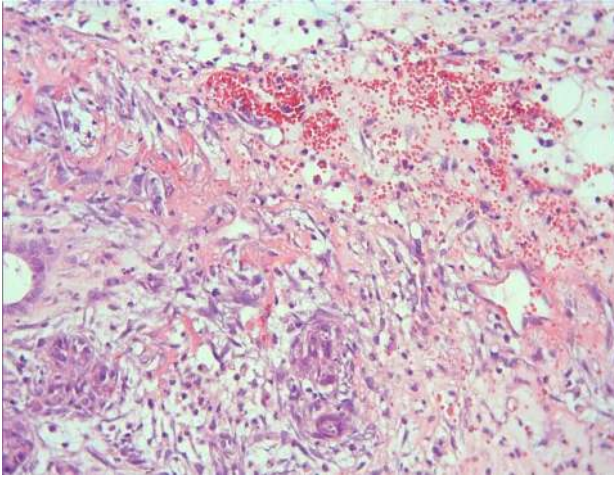
Resim 16

**Sham grubu;** Normal histolojik görünümde ekzokrin ve endokrin pankreas. H-E, x40.



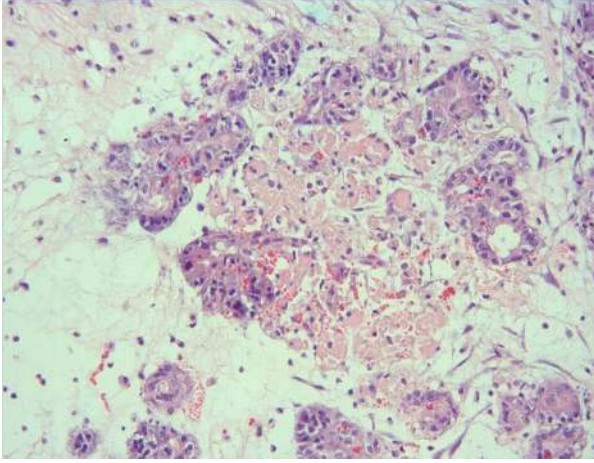
Resim 17

**Pankreatit grubu;** Lökosit infiltrasyonu, asiner dejenerasyon, interstisyel ödem. H-E, x20



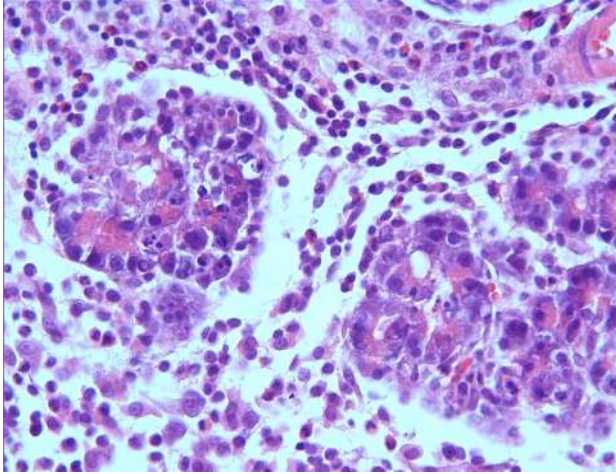
Resim 18

**Pankreatit grubu;** Asiner dejenerasyon, hemoraji, interstisyel ödem, lökosit infiltrasyonu. H-E, x20



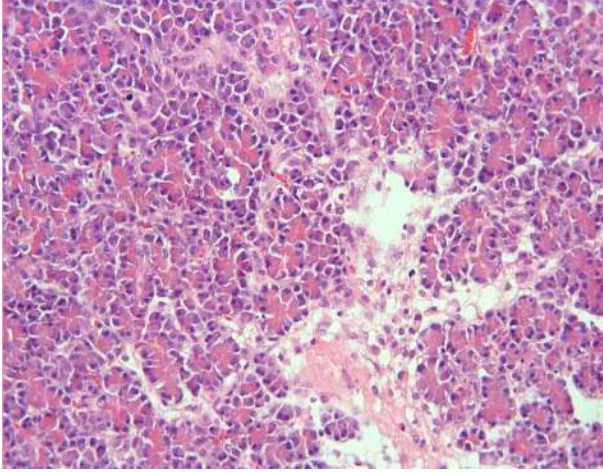
Resim 19

**Pankreatit grubu;** Asiner nekroz ve dejenerasyon, hemoraji, interstisyel ödem, lökosit infiltrasyonu. H-E, x20



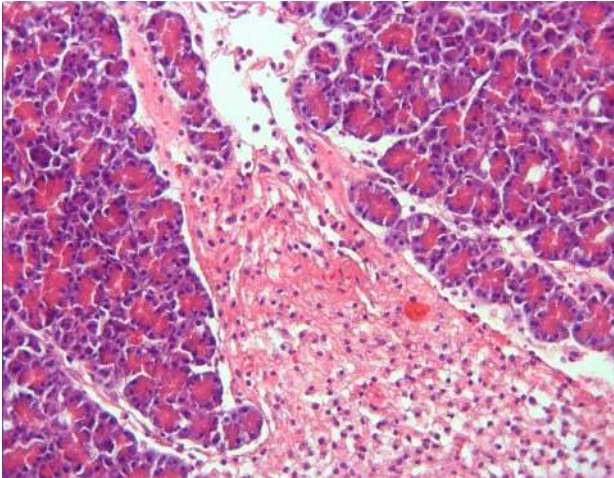
Resim 20

**Pankreatit grubu;** Asiner dejenerasyon, apoptotik cisimcikler, lökosit infiltrasyonu, interstisyel ödem. H-E, 40



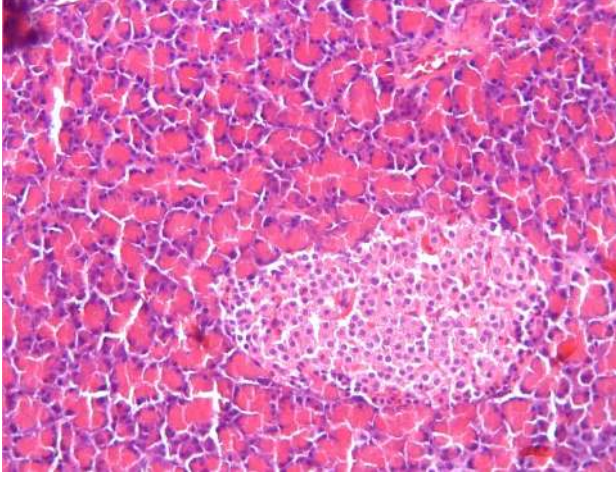
Resim 21

**Pankreatit + tedavi grubu;** Minimal interstisyel ödem ve asiner hücre dejenerasyonu.  
H-E, 20



Resim 22

**Pankreatit + tedavi grubu;** Minimal interstisyel ödem lökosit infiltrasyonu. H-E, x20



Resim 23

**Pankreatit + tedavi grubu;** Normal histolojik yapıda ekzokrin ve endokrin pankreas. H-E, x20

## **4.BULGULAR**

### **4.1 Biyokimyasal Bulgular**

Çalışmada elde edilen biyokimyasal, sitolojik ve patolojik bulgular anlamlı olup, biyokimyasal parametreler Tablo-6 da gruplarıyla birlikte karşılaştırılmıştır. Tablo-6 da görüldüğü gibi tedavi grubu ile pankreatit grubu karşılaştırıldığında AST, ALT, Amilaz ve Lipaz düzeylerinde tedavi grubunda pankreatit grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi (  $P<0.01$ ). LDH düzeyinde de azalma vardı ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Tedavi grubunda AST, ALT, amilaz ve lipaz düzeyleri kontrol, sham grubundan daha düşük düzeyde olup, istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $P>0.05$ ).

**Tablo 6:**Biyokimyasal sonuçlar

|        | kontrol      | sham          | pankreatit    | Pank.+tdv     | P     |
|--------|--------------|---------------|---------------|---------------|-------|
| AST    | 66(54-106)   | 50(36-115)    | 87(33-167)    | 61(38-94)     | 0.6   |
| ALT    | 29(21-43)    | 18.5(11-26)   | 30(7-42)      | 9(9-34)       | 0.7   |
| LDH    | 379(223-799) | 227(113-431)  | 415(55-1557)  | 266(117-539)  | 0.3   |
| AMİLAZ | 495(397-677) | 442(312-1011) | 882(309-1685) | 460(199-1176) | 0.4   |
| LİPAZ  | 5(4-8)       | 9(6-20)       | 53(10-159)    | 12(7-173)     | 0.001 |

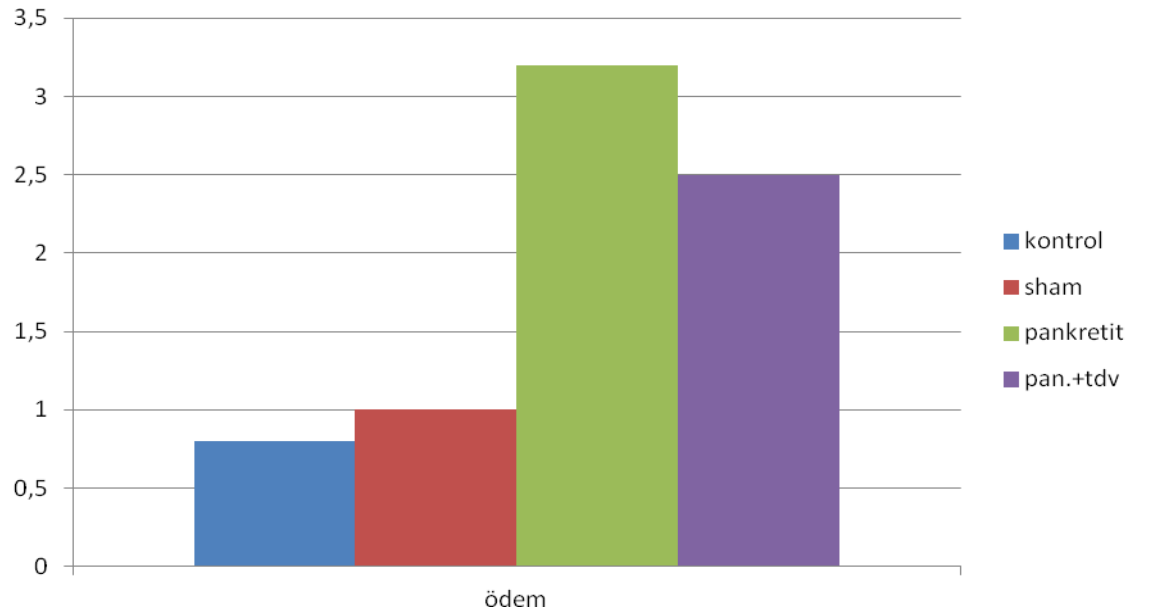
Biyokimyasal doku parametreleri Tablo-7 de grupları ile birlikte karşılaştırılmıştır. Tablo-7 de görüldüğü gibi tedavi grubu ile pankreatit grubu karşılaştırıldığında CAT, SOD, GSH-Px, NO(Protein), NO(Yaş doku), MDA, GSH(yaş doku), PCdüzeylerinde tedavi grubunda pankreatit grubuna göre anlamlı bir farklılık tespit edildi ( $P<0.01$ ). Diğer grupların ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir. ( $P>0.05$ )

**Tablo:7** Biyokimyasal doku sonuçları

|             | kontrol         | sham             | pankreatit        | Pank+tdv.       | P     |
|-------------|-----------------|------------------|-------------------|-----------------|-------|
| CAT         | 0.08(0.07-0.16) | 0.16(0.09-0.23)  | 0.25(0.1-1.2)     | 0.17(0.05-0.9)  | 0.02  |
| SOD         | 0.12(0.06-0.15) | 0.37(0.25-0.49)  | 0.33(0.08-0.59)   | 0.28(0.2-0.38)  | 0.003 |
| GSH-PX      | 1.6(1.43-4.88)  | 2.7(1.88-8.28)   | 3(2.23-5.30)      | 2.3(1.44-3.27)  | 0.06  |
| NO(PROTEİN) | 0.006(0-0.03)   | 0.005(0-0.01)    | 0.007(0.001-0.01) | 0.006(0-0.01)   | 0.6   |
| NO(DOKU)    | 0.03(0.02-0.11) | 0.017(0.02-0.03) | 0.025(0.02-0.04)  | 0.02(0.01-0.04) | 0.2   |
| MDA         | 4(0.65-29.1)    | 35.5(3.9-41.5)   | 6.2(2.49-41.8)    | 3(1.76-33.5)    | 0.06  |
| GSH(YAŞ DK) | 174(140-274)    | 210(152-244)     | 169(131-334)      | 136(126-324)    | 0.2   |
| PC          | 1.03(0.71-2.62) | 1.43(0.96-2.43)  | 1.83(0.97-2.98)   | 0.89(0.44-2.98) | 0.1   |

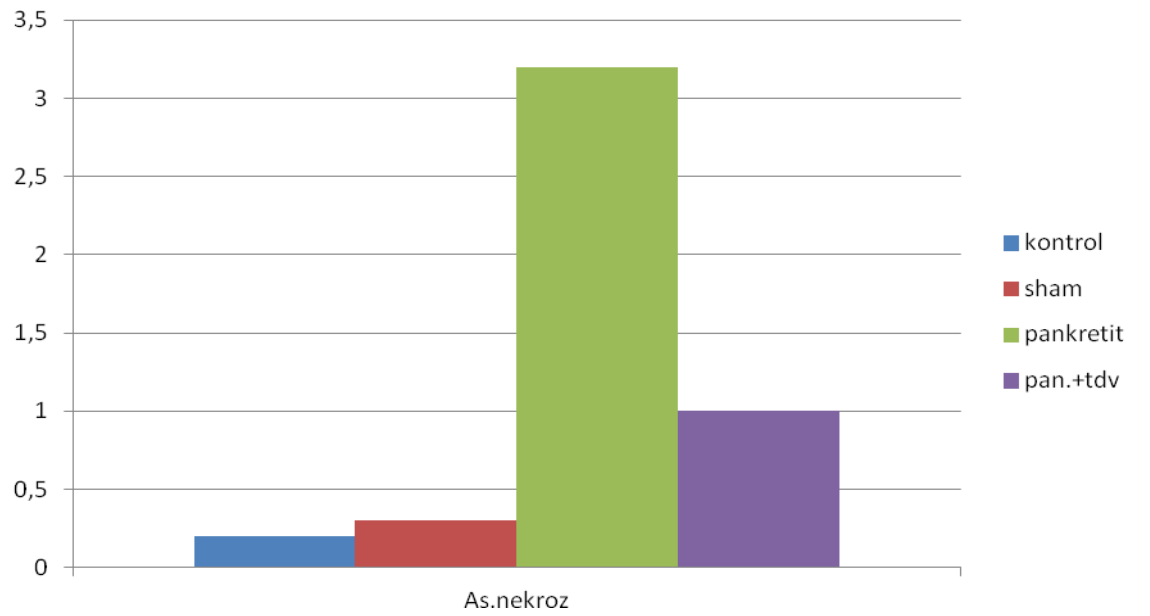
**4.2 Patolojik Bulgular:** Gruplar ödem açısından değerlendirildiğinde şekil -1 de görüldüğü gibi tedavi grubunda pankreatit grubuna nazaran ödem düzeyinde anlamlı azalma izlendi.( $P<0.05$ )

**Grafik-1:**Ödem düzeyi



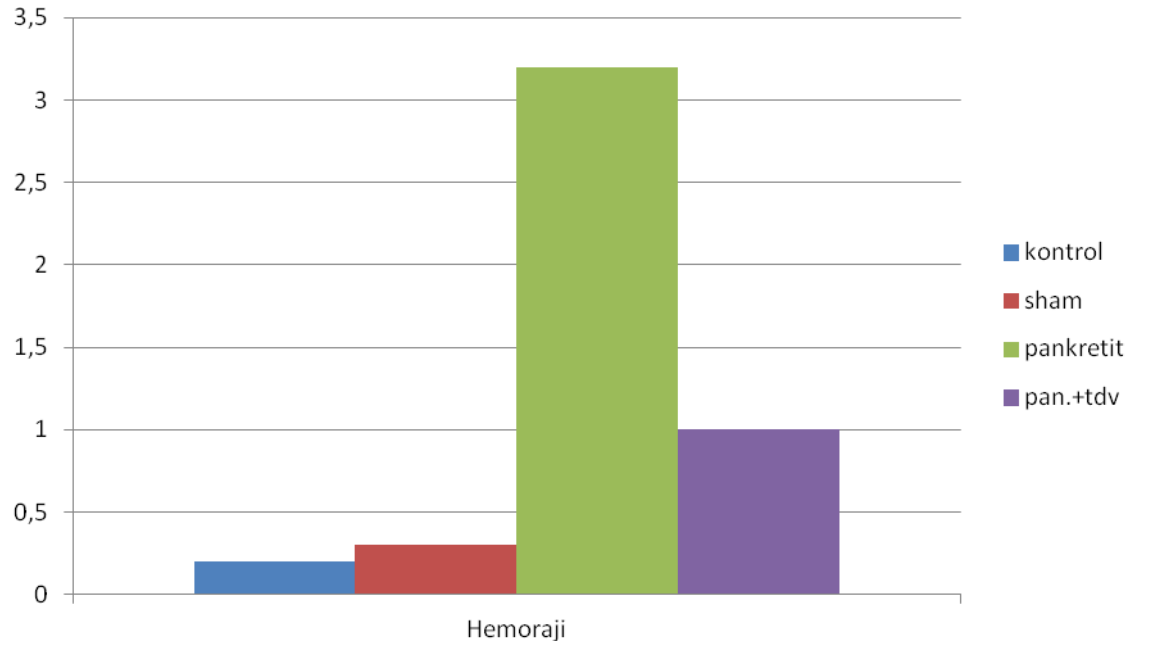
Gruplar asiner nekroz açısından karşılaştırıldıklarında kontrol, sham grubunda nekroz izlenmezken şekil-2 de görüldüğü gibi tedavi grubunda pankreatit grubuna göre nekroz düzeyi anlamlı düzeyde düşük izlendi( $P<0.05$ ).

**Grafik-2** Nekroz düzeyi



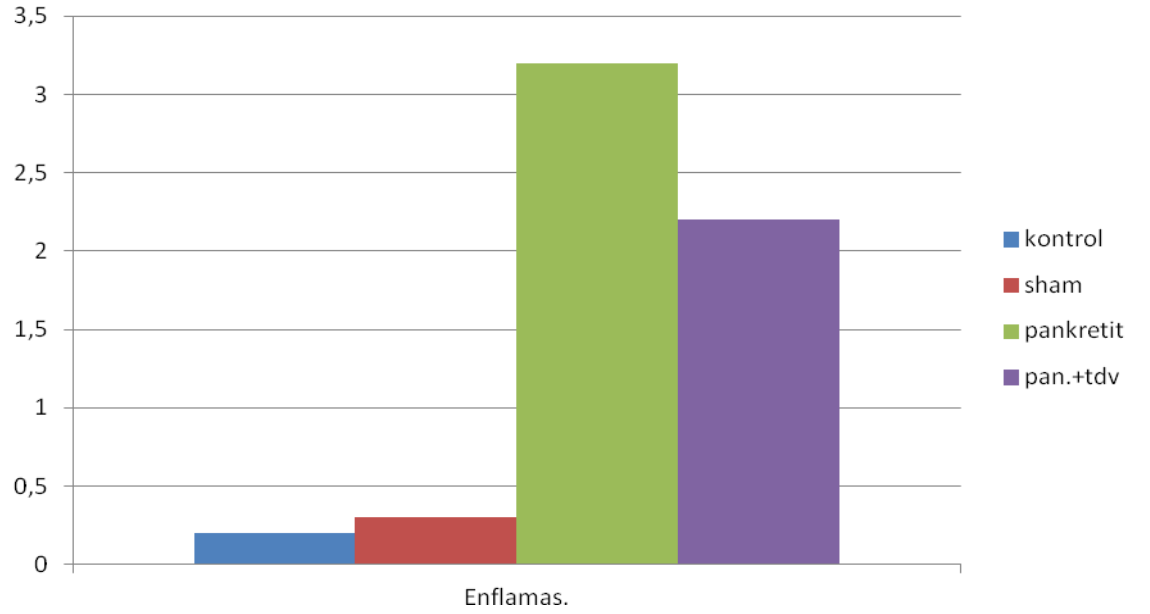
Gruplar patolojik olarak hemoraji açısından karşılaştırıldıklarında kontrol, sham grubunda minimal hemoraji izlenirken şekil-3 de görüldüğü gibi tedavi grubunda pankreatit grubuna göre hemoraji düzeyi anlamlı düzeyde düşük izlendi( $P<0.05$ ).

**Grafik-3** Hemoraji düzeyi



Gruplar lokosit enflamasyon açısından karşılaştırıldıklarında kontrol, sham grubunda enflamasyon izlenmezken şekil-4 de görüldüğü gibi tedavi grubunda pankreatit grubuna göre enflamasyon düzeyi anlamlı düzeyde düşük izlendi( $P<0.05$ ).

**Grafik-4 :Enflamasyon düzeyi**



### 4.3 Sitolojik Bulgular

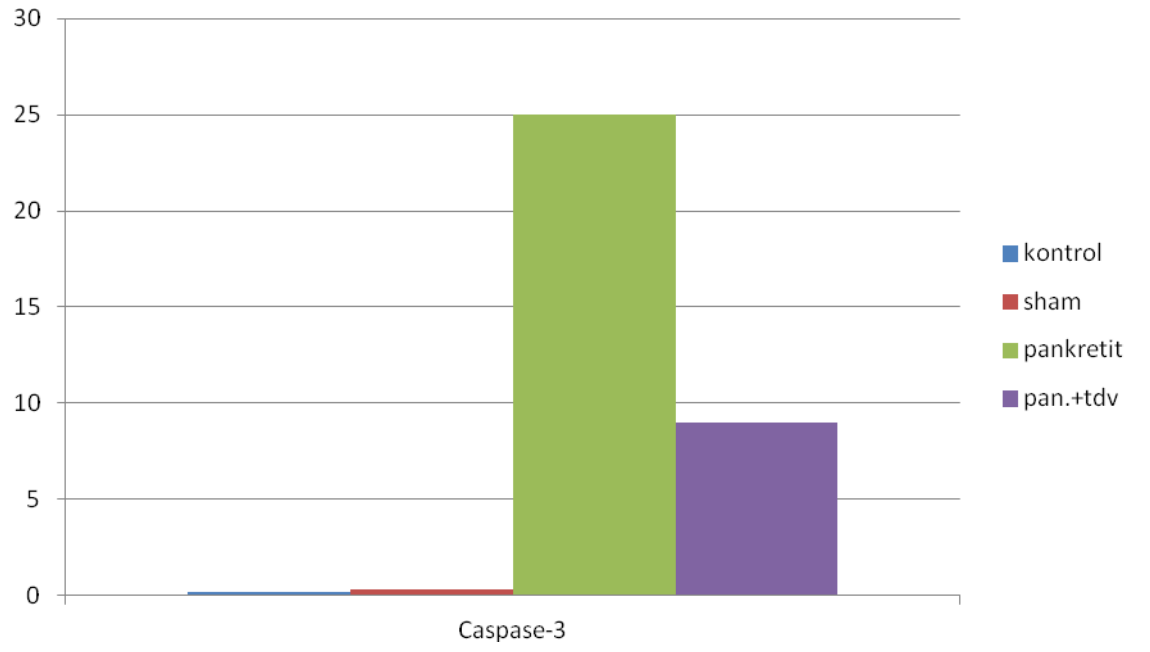
Sitolojik parametrelerden **Caspase-3** tedavi, pankreatit grupları arasında karşılaştırıldı, caspase-3 düzeyinin gruplar arasındaki değişimi şekil-5 de gösterilmiştir. Pankreatit ile Pankreatit+Tdv grupları Caspase-3 değerleri açısından karşılaştırıldığında önemli farklılık bulundu. (mann-whitney U testi, P:0.002)

**Tablo 8:Caspase-3 sonuçları**

|                  | Pankreatit    | Pankreatit+Tdv | P     |
|------------------|---------------|----------------|-------|
| <b>Caspase-3</b> | 21.2(19-25.4) | 8.2(7.4-12.8)  | 0.002 |

Caspase-3 değerleri Pankreatit ve Pankreatit +tdv grupları arasında Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

**Grafik-5 : Caspase-3 düzeyi**



## 5. TARTIŞMA

Akut Pankreatit morbidite ve mortalitesi yüksek bir hastalık olup, fizyopatogenezi henüz net olarak aydınlatılmamıştır. Akut pankreatit'in tedavisinde temel olarak vital bulgular izlenmekte, normal intravasküler volüm sürdürülmekte, elektrolit dengesi ve analjezi sağlanıp, muhtemel komplikasyonlara yönelik tedavi planlanmaktadır. AP tedavisinde bugüne kadar hiçbir ilaç uygulamasının yararı gösterilememiştir. AP bölgesel dokuların ve uzak organ sistemlerinin farklı derecelerde etkileneşmesi ile birlikte, pankreasın akut inflamasyonudur. Akut pankreatitli hastaların %80'i kendini sınırlayıcı olup, hafif şiddetle seyreder ve spontan olarak hızla iyileşme gösterirler. Fakat %20 oranında, ağır akut pankreatit gelişmekte olup mortalite oranı %15 oranında görülmektedir. Bu grup hastalarda da çoğunlukla sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS) ve çoklu organ yetmezlik sendromu (MODS) gibi mortalitesi yüksek komplikasyonlar gelişmektedir. AP, herhangi bir etiyolojik sebeple inaktif durumdaki sindirim enzimlerinin erken aktive olarak pankreas ve çevre dokuları sindirmesi ve buna bağılı yaygın bir enflamasyonun gelişmesi ile karakterize, organizmada çeşitli komplikasyonlara yol açan klinik bir tablodur. Pankreatit gelişimine neden olan başlıca etkenin asiner hücrelerde tripsinojenin aktif tripsine erken aktivasyonu olduğı düşünülmektedir. Bu erken enzimatik dönüşüm sonucunda ekzokrin pankreas kendi kendini sindirir. Geçerli güncel tedavi pankreatik ekzokrin sekresyonun baskılanmasına yönelik girişimlerdir.

Deneyşel akut pankreatit modellerini oluşturmak, bize bu kompleks hastalığın oluşma mekanizmasını anlamamız konusunda bilgi vermekle kalmayacak, aynı zamanda tedaviye yönelik yeni yaklaşımlarda da bulunmamızı sağlayacaktır. Bu nedenle bu çalışmamızda sıçanlarda bir safra asidi olan Na-taurokolik asit ile deneyşel akut pankreatit modeli oluşturup şu parametreleri değerlendirdik:

1-Pankreatit seyri sırasında kanda AST, ALT, LDH, Amilaz, Lipaz dokuda CAT, SOD, GSH-Px, NO(protein), NO(yaş doku), MDA , GSH(yaş doku), PC olaylarında olan değişiklikleri inceledik.

2-Pankreas, böbrek, ileum, karaciğer, akciğer parankiminde akut pankreatit'e bağlı histopatolojik değişiklikleri değerlendirdik.

3-Trimetazidine'nin akut pankreatitte pankreas, KC, ileum, akciğer, böbrek te oluşan kan, doku ve histopatolojik değişiklikleri kaydettik.

Deneyssel akut pankreatit modeli oluştururken duktus injeksiyon modelini seçmemizin nedeni bu modelde kullanılan maddenin konsantrasyon ve uygulama basıncının ayarlanabilirliğine göre, insanlardakine benzer formda akut pankreatitin hafif ve şiddetli formlarını oluşturabilmektir. Ayrıca bu model tekrarlanabilir olmasından dolayı, akut pankreatitin sistemik etkilerini incelemede de önemli veriler sağlamaktaydı. Uwe Wittel ve arkadaşları Na-taurokolat konsantrasyonları ile pankreatit şiddeti arasındaki bağlantıyı ortaya koymak açısından bir çalışma yapmışlar. Bu çalışmada %2, %3, %4 ve %5'lik Na-taurokolat konsantrasyonları ile deneyssel pankreatit modeli oluşturulmuş ve pankreatit şiddeti incelenmiş. %2 ve %3'lük konsantrasyonlarda Na-taurokolat verilmesinin hafif pankreatit tablosunu oluşturduğunu, %4 ve %5'lik konsantrasyonda Na-taurokolat verilmesi sonucunda ise ağır akut pankreatit tablosunu oluşturduğunu ve retroperitoneal yağ nekrozu, asiner hücre nekrozu ve lökosit infiltrasyonunun daha belirgin olduğunu saptamışlar (90). Biz de bu çalışmamızda ağır akut pankreatit tablosu oluşturmak açısından %5'lik konsantrasyonda Na-taurokolat kullandık.

Biz bu çalışmada kontrol ,sham grubu Kontrol grubu ratların pankreas dokusu kesitlerinde, stromal bağ dokusu, seröz asinuslar ve Endokrin pankreas (Langerhans adacıkları) normal histolojik yapıda izlendi. Seröz asiner hücrelerin bazal sitoplazma kısımlarının bazofilik, apikal sitoplazma kısımlarının asidofilik boyandığı, intralobüler ve interlobüler kanal ve vasküler yapıların düzgün ve açık olduğu görüldü. Fakat Na-taurokolat ile pankreatit oluşturulmuş ratların ekzokrin pankreaslarında görülen belirgin histopatolojik değişikliklere bağlı olarak genel histolojik yapının bozulduğu saptandı. Ekzokrin pankreas alanlarında seröz asinuslarda dejenerasyon, nekroz, yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu, intralobüler ve interlobüler alanlarda ödem belirgindi.

Seröz asinus hücreleri arasında çok sayıda apoptotik cisimciklere rastlandı. Asiner hücrelerde intrasitoplazmik vakuoller görüldü. Seröz asiner hücrelerinin sitoplazmasındaki zimojen granüllerin azaldığı dikkati çekti. Yer yer stromal bağ dokusu ve parankima içerisine yayılan hemorajik alanlar izlendi. Apoptotik cisimciklere bağlı olarak caspase-3 de artış saptadık. Bu hasarın biyokimyasal göstergesi olarak bu grupta kanda AST, ALT, LDH, amilaz, lipaz enzim değerlerinde yükselme, dokuda CAT, SOD, GSH-Px, NO(protein), NO(yaş doku), MDA, GSH(yaş doku), PC olaylarında olan değişiklikleri inceledik. Ratlarda Na-taurokolat ile oluşturulmuş akut pankreatitte asiner hücrelerde apoptoz görülmüştür. Akut ödematöz pankreatitte akut nekrotizan pankreatite oranla asiner hücre apoptoz oranı yüksek bulunmuştur. Apoptoz oranında hastalığın şiddeti ile birlikte artış gözlenmiştir. Bu durum apoptozun pankreas hasarına karşı gelişen olumlu bir cevap olduğunu düşündürmektedir (91). Çalışmamızda Na-taurokolat uygulaması ile oluşturduğumuz ödematöz pankreatitte asiner hücrelerde çok sayıda değişik büyüklükte apoptotik cisimcikleri caspase-3 ile kaydettik.

Normal metabolizma veya patolojik yollarla ortaya çıkan serbest radikallerin etkileri oksidatif stres olarak adlandırılır. Patolojik durumlarda serbest radikaller göreceli olarak fazla miktarda oluşurlar ve oksidasyon dengesini değiştirirler. Bu değişim sonucunda hücre ve doku fonksiyonları zarar görür. Oksidatif stresin pek çok hastalıkla birlikte akut pankreatitin patogeneze katkıda bulunduğu düşünülmektedir. SOR' nin akut pankreatitin erken dönemlerinde olduğu gösterilmiştir. SOR, membranda peroksidatif reaksiyonlara yol açarak hücre membranını hasarlayan ve geri dönüşümsüz olarak hücre hasarına yol açan oldukça reaktif moleküllerdir (92). Pankreas interstisyumunu infiltre eden aktive olmuş nötrofiller ve monositler dokuyu hasarlayan oksijen radikallerinin kaynağı olabilirler (93). Fizyolojik koşullarda hücre içi biriken fazla kalsiyum dışarı atılarak Ya da hücre içinde depolanarak tolere edilir. Serbest radikal üretimi ise kalsiyum depolanmasını engelleyerek bir kısır döngüye neden olur. Bunun ile ilgili mekanizmalar olarak; tirozin kinaz reseptörü, protein kinaz C ve MAP kinaz (mitogenactivated protein kinase)' ların aktivasyonu sorumlu tutulmaktadır. Artmış kalsiyum, sit c ve AIF (Apoptosis Inducing Factor) gibi kaspaz aktive edici faktörlerin mitokondriden salınımını tetikler. Mitokondriden sitozole sit c salınımı, caspase-9'u aktive eder. Caspase-9, hücre ölümünü tetiklemek için caspase-3'ü aktive eder(94).

SOR doku hasarında önemli rolleri olan mediyatörler olmakla beraber, tek başına ekstrasellüler SOR oluşumu akut pankreatitteki tipik enzimatik ve morfolojik değişikliklerden sorumlu değildir.

Trimetazidine'nin doğrudan hemodinamik etkisi yoktur. Bu ilaç, hücresel oksijen tüketimini etkilemeden, iskeminin hücrede meydana getirdiği metabolik değişikliklere karşı hücreyi ve iskemik hücrenin enerji potansiyelini korur (54). Hücrenin ATP içeriğinin azalmasını engeller, hücre içi asidozu azaltır ve hücreyi serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı korur (51-52). Trimetazidine (TMZ) iskemik hasar sırasında miyokard hücrelerinde enerji metabolizmasını optimize eden bir ajan olarak yaklaşık 40 yıldır kullanılmaktadır. TMZ nin antiiskemik etkileri yağ asidi oksidasyonunda azalma, glukoz oksidasyonu stimülasyonu gibi metabolik etkileri dışında, mitokondri iç zarında bulunan mitokondrial permeability transition pore (mPTP)yi düzenlediğine ait veriler mevcuttur. Mitokondriyi koruma mekanizmalarından biride prooksidanların varlığında yüksek mitokondriyal  $Ca^{+2}$  tarafından oluşturulan mitokondri şişmesini inhibe etmesidir.

Çalışmamızda; Na-tauorokolat solüsyonunun biliopankreatik yolla ratlara enjeksiyonunu takiben kontrol grubuna göre serum AST, ALT, amilaz, lipaz , LDH düzeylerinde belirgin bir yükselme izlenmiş olup yine orogastrik yolla Trimetazidine tedavisi verilen tedavi grubunda bu parametrelerde anlamlı düşme bulundu (  $P<0.01$ ). Burada Trimetazidine'nin özellikle antiiskemik ve antioksidan etkisinin ön plana çıktığını düşünmekteyiz. AP indüksiyonuyla birlikte pankreatik mi krosirkülasyon bozulmakta ve böylece iskemi ve enflamasyon gelişmektedir, iskemi ve enflamasyonla beraber SOR' nin üretimi de artmaktadır. Antioksidan bir ilaç olan trimetazidine SOR' nin zararlı etkilerine karşı hücreyi korumaktadır, iskemi ve enflamasyon gelişince AST, ALT, LDH amilaz ve lipaz düzeyleri yükselmekte bununla birlikte doku da ( CAT, SOD, GSH-Px, NO(protein), NO(yaş doku), MDA, GSH(yaşdoku), PC ) değişmektedir. Doğrudan hemodinamik etkisi olmayıp hücresel düzeyde antiiskemik bir ilaç olan Trimetazidine'nin bu özelliğinden dolayı hücresel düzeyde iskemi ve beraberinde enflamasyonu gerileterek serum da AST, ALT, amilaz, lipaz LDH dokuda da (CAT, SOD, GSH-Px, NO(protein), NO(yaş doku), MDA, GSH(yaşdoku), PC ) düzeylerinde belirgin azalma yapmış olabilir. Yine Na-tauorokolat verilerek pankreatit

oluşturulan çalışma grubunda mikrosirkulasyonun bozulmasıyla beraber histopatolojik olarak dem, asiner hücre nekrozu, hemoraji ve perivasküler enflamasyon düzeyinde belirgin artış mevcut iken antiiskemik ve antioksidan bir ilaç olan Trimetazidine ile tedavi verilen grupta bu parametrelerde çalışma grubuna göre belirgin düzeyde düşüş tespit edildi. ( $P<0.05$ ) Bizim alışmamızda da en belirgin parametrelerden bir tanesi, pankreatit grubunda ödem, hemoraji ve lökosit infiltrasyonunun orta ve şiddetli formları yüksek oranda gözükürken, tedavi grubunda ağıır formları saptanmadı. Bu da bize Trimetazidine'in akut pankreatit seyri sırasında pankreasta oluşan özellikle ödem, hemoraji ve lökosit infiltrasyonunu üzerinde iyileşme sağladığını göstermektedir.

Na-taurokolat ile pankreatit yapılan 16 ratın 4 'n ilk 24 saatte (%25) olmak üzere 72 saatte 8 ratı (%50) mortal seyretti, Trimetazidine ile tedavi edilen 15 rattan ilk 24 saatte 2'sini (%13.3) olmak üzere 72saate 4ratı (%26.6) mortal seyretti. Bu alışma antioksidan, antiiskemik, mitokondri iç zarında bulunan mitokondrial permeability transition pore (mPTP) yi düzenleyen, bu özelliklerinin yanında serbest radikal temizleyicisi olduğu bilinen Trimetazidine'in deneysel oluşturulmuş pankreatitte mortalite'yi azalttığını göstermiştir.

## **6.SONUÇ**

Bu çalışma antioksidan, antiiskemik, mitokondri iç zarında bulunan mitokondrial permeability transition pore (mPTP)yi düzenleyen, bu özelliklerinin yanında serbest radikal temizleyicisi olduğu bilinen Trimetazidine'in deneysel oluşturulmuş pankreatitte mortalite'yi azalttığını göstermiştir. Trimetazidine'in akut pankreatit'in erken döneminde biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri belirgin şekilde gerileterek pankreası koruduğu ve mortaliteyi azalttığı bizim çalışmamızda da gözlenmiştir.

## 7.ÖZET

**Amaç:** Akut Pankreatit morbidite ve mortalitesi yüksek bir hastalıktır. Fizyopatogenezi henüz net olarak aydınlatılmamıştır. Ancak pankreatit'te sonuçta vasküler harabiyetle birlikte intestinal ödem, kanama ve pankreas ile çevre dokularda yağ nekrozu gelişmektedir. Trimetazidine, antiiskemik, antioksidan ve kardiyoprotektif bir ajandır. Bu çalışmanın amacı, trimetazidine'nin akut pankreatit üzerine olan etkilerinin araştırılmasıdır.

**Materyal-Metot:** Çalışmada; ağırlıkları 180-220gr arasında, Sprague-dawleycinsi 43 adet dişi rat 4 gruba bölündü. Grup1 yani sham (n=6)'a laparotomi yapıp, intraperitoneal%0,9 NaCl enjeksiyonu yapıldı. Grup2 kontrol grubu(n=6) olup işlem yapılmamış grup, Grup3 yani pankreatit grup (n=16)'a Na-taurokolat verilerek akut pankreatit oluşturuldu. Grup4(n=15) ise pankreatit+Trimetazidine verilen gruptu. Grup 3 (n=16)' e akut pankreatit oluşturulduktan 30 dakika 24,48 saat sonra trimetazidine 10 mg/kg/gün olacak şekilde üç eşit doz halinde orogastrik olarak verildi. Tüm ratların 72 saat sonra genel anestezi altında karınları açılarak pankreas dokuları çıkarılıp, histopatolojik inceleme yapıldı. Kan alınarak serumda amilaz, lipaz, LDH, AST ve ALT; dokuda SOD, CAT, GSH-Px, MDA, NO, PC, GSH düzeylerine bakıldı.

**Bulgular:** Tedavi grubunda kanda AST, ALT, amilaz, lipaz, LDH; dokuda SOD, CAT, GSH-Px, MDA, NO, PC, GSH ve histopatolojik olarak pankreas dokusunda ödem, hemoraji, asiner hücre nekrozu ve perivasküler enflamasyon düzeyi çalışma grubuna göre belirgin olarak düşük izlendi ( $P<0.005$ ).

**Sonuç:** Trimetazidine akut pankreatit'in erken döneminde biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri belirgin şekilde geriletirerek pankreası koruyup mortaliteyi azalttığı gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Akut Pankreatit, Na-taurokolat, Trimetazidine

## 8.ABSTRACT

**Aim:** Acute pancreatitis has a high morbidity and mortality. Its physiopathogenesis has not been enlightened absolutely, acute pancreatitis; interstitial edema, hemorrhage and lipid necrosis has been developed in pancreas and adjacent tissues with vascular damage. Trimetazidine is an antiischemic, antioxidant and cardioprotective agent. This study aims to investigate trimetazidine's effects on the acute pancreatitis.

**Materials-Methods:** In this study, three equal groups are formed with 43 female Sprague-dawley type rats weighed between 180-200 gr. 0.9% NaCl is injected intraperitoneally to the group 1 sham (n=6). Group 2 (n=6) is control. Acute pancreatitis is formed in group 3 (n=16) via injection of Na-taurokolate. Group 4 (n=15) is pancreatitis and treatment. In group 3 (n=16) 30 minutes, 24, 72 hours after formation of acute pancreatitis trimetazidine 10 mg/kg/day in three equal doses by orogastric way. In all groups, the rats have been laparatomized 72 hours later under general anesthesia and pancreas tissues have been extracted and studied histopathologically. Amylase, lipase, LDH, AST, ALT, SOD, CAT, GSH-Px, MDA, NO, PC and GSH levels also have been looked up in the rats serum, tissue.

**Results:** AST, ALT, Amylase, lipase, SOD, CAT, GSH-Px, MDA, NO, PC and GSH histopathologically in the pancreas tissue edema, hemorrhagia, acinar cell necrosis and perivascular inflammation levels show significant decrease in the treatment group compared to study group ( $P < 0.005$ ).

**Conclusion:** Trimetazidine protects pancreas tissue and decreases the mortality by significantly lowering the biochemical and histopathological changes in the early stages of acute pancreatitis.

**Keywords:** Akut Pankreatit, Na-taurokolate, Trimetazidine

## 9.KAYNAKLAR

- 1- Baykal, Y., Gök, F.: Pankreatik inflamasyonda oksidatif stres. *Sendrom* 14, (8), 71-78, 2002
- 2-Rahman, S.H., Ammori, B.J., Larvin, M., McMahon, M.J.: Increased nitric oxide excretion in patients with severe acute pancreatitis: evidence of an endotoxin mediated inflammatory response?. *Gut*52, 270-274, 2003
- 3-Derivoğlu, A., Ertürk S., Yavuz, N., Yüceyar, S., Atay, F., saner, H.: Akut pankreatit tedavisinde süperoksit dismutaz ve prostaglandin E'nin etkileri. *Çağdaş Cerrahi Dergisi* 12,186-191, 1998
- 4-Akın, M. L., Erenoğlu, C., Batkın, A.: Akut pankreatit patogeneğinde serbest oksijen radikallerinin rolü, E vitamininin olası terapötik etkisi. *Çağdaş Cerrahi Dergisi* 11, 132-136, 1997
- 5-Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T.: Pathologic Basis of Disease, 6ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp. 902-929, 1999
- 6-Barlas, O., Dinç, İ., Gürakar, M., Ogan, H.: İç Hastalıkları Kitabı Gastroenteroloji, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, s. 226-235, 1982
- 7-Guarnieri C, Muscari C. Beneficial effects of trimetazidine on mitochondrial function and superoxide production in the cardiac muscle of monocrotaline - treated rats. *Biochem Pharmacol.* 1988;24:4685-4688.
- 8-Guarnieri C, Muscari C. Beneficial effects of trimetazidine on mitochondrial function and superoxide production in the cardiac muscle of monocrotaline - treated rats. *Biochem Pharmacol.* 1988;24:4685-4688.
- 9-Munoz A, Katerndahl DA. Diagnosis and management of acute pancreatitis. *Am Fam Physician.* 2000y 1; 62(1):164-74.

10-Neoptolemos JP, Raraty M, Finch M, Sutton R. Acute pancreatitis: The substantial human and financial costs. *Gut* 1998;42:886- 891.

11-Sekimoto M, Takada T, Kawarada Y, Hirata K, Mayumi T, et al. JPN guidelines for the management of acute pancreatitis: epidemiology, etiology, natural history and outcome predictors in acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2006;13:10-24

12-Lankisch PG, Assmus C, Lehnick D, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Acute pancreatitis: does gender matter? *Dig Dis Sci* 2001; 46(11 ):2470-4

13-Lankisch PG, Lowenfels AB, Maisonneuve P. What is the risk of alcoholic pancreatitis in heavy drinkers? *Pancreas* 2002;25(4):411 – 12

14-Eastwood GL, Avunduk C: *Manual of Gastroenterology*, Little Brown and Company, 1988. Boston, p 231.

15-Avunduk C *Manual of Gastroenterology*, 3th ed. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins.2002; p.532-541.

16-Baron TH, Morgan DE. Acute necrotizing pancreatitis. *N Engl. J. Med*. 1999;340:1412-1417.

17-Banks PA. Acute pancreatitis. *Bockus Gastroenterology*; Ed: Haubrich W. S, Schaffner F, Berk J. E; W. B. Saunders Com. Philadelphia, 1995; 2888-2917.

18-Gorelick FS. Alcohol and zymogen activation in the pancreatic acinar cell. *Pancreas*.2003 Nov;27(4):305-310.

19-Migliori M, Manca M, Santini D, et al. Does acute alcoholic pancreatitis precede the chronic form or is the opposite true? A histological study. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: 272.

20-Diehl A. K, Holleman Jr DR, Chapman J. B. Gallstone size and risk of pancreatitis. *Arch Intern Med* 1997; 157: 1674.

21-Ros E, Navarro S, Bru C, et al. Occult microlithiasis in idiopathic acute pancreatitis: Prevention of relapses by cholecystectomy or ursodeoxycholic acid therapy. *Gastroenterology* 1991; 101: 1701.

- 22-Lankisch PG, Droege M, Gottesleben F. Drug induced acute pancreatitis: Incidence and severity. *Gut* 1995; 37: 565.
- 23-Thomson JS, Bragg LE, Hodgan PE, et al. Postoperative pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 1988; 167: 377-80.
- 24-Fortson MR, Freedman SN, Webster PD. Clinical assesment of hyperlipidemic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 2134.
- 25-Prinz RA, Aranha GV. The association of primary hyperparatiroidism and pancreatitis. *Am Surg* 1985; 51: 325-329.
- 26-Nathens A, Marshall J. Sepsis, SIRS, and MODS: What's in a name<sup>9</sup> *World J Surg* 1996 ;20:386-391.
- 27-Balakrishnan V, Philip M. Cytokines as predictors of severity in acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13:1177-1179.
- 28-American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20:864-874.
- 29-McKay C, Evans S, Sinclair M, Carter C, Imrie C. High early mortality rate from acute pancreatitis in Scotland, 1984-1995. *Br J Surg* 1999; 86:1302-1306.
- 30- Deitch EA, Goodman ER. Prevention of multiple organ failure. *Surg Clin North Am* 1999; 79:1471-1488.
- 31-Osman M, Jensen S. Acute pancreatitis: The pathophysiological role of cytokines and integrins. *Dig Surg* 1999; 16:347-362.
- 32-Tenner S, Sica G, Hughes M, Noordhoek E, Feng S, Zinner M, Banks P. Relationship of necrosis to organ failure in severe acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1997; 113:899-903.
- 33-Kaiser AM, Saluja AK, Sengupta A, Saluja M, Steer ML. Relationship between severity, necrosis and apoptosis in five models of experimental acute pancreatitis. *Am J Physiol* 1995;269(5pt1):C1295-1305
- 34-Yang WY, Yang Y, Zhou J. Expression of Bax, Bcl-2 in rats with experimental acute pancreatitis. *China J Modern Med* 2002;12:14-16.
- 35-Allen RT, Hunter III WJ, Agrawal DK. Morphological and biochemical characterization and analysis of apoptosis. *JPM* 1997;37:215-28.

36-Metivier D, Dallaporta B, Zamzami N. Cytofluorometric detection of mitochondrial alterations in early CD95/Fas/APO-1 triggered apoptosis of Jurkat T lymphoma cells. Comparison of seven mitochondrion-specific fluorochromes. *Immunol Lett* 1998;61:157-63.

37-Mills JC, Stone NL, Erhardt Pittman RN. Apoptotic membrane blebbing is regulated by myosin light chain phosphorylation. *J Cell Biol* 1998b; 140:627-36.

38-Janicke RU, Sprengart ML, Wati MR, Porter AG. Caspase- 3 is required for DNA fragmentation and morphological changes associated with apoptosis. *J Biol Chem* 1998b;273:9357-60.

39-Kitson J, Raven T, Jiang YP, Goeddel DV, Giles KM, Pun KT et al. A death-domain containing receptor that mediates apoptosis. *Nature* 1996;384:372-5.

40-Şimşek, F.:Serbest oksijen radikalleri, antioksidantlar ve lipid peroksidasyonu. *Türkiye Klinikleri Pediatri* 8, 42-47, 1999

41-Sanfey H, Bulkley GB, Cameron JB. The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ann Surg.* 1984;200:405-413.

42-Sanfey H, Sarr MG, Bulkley GB, Cameron JL. Oxygen-derived free radicals and acute pancreatitis: a review. *Acta Physiol Scand Suppl.* 1986;548:109-118.

43-Guice KS, Miller DE; Oldham KT, et al. Superoxide dismutase and catalase: a possible role in established pancreatitis. *Am J Surg.* 1986; 153:163—169.

44-Schoenberg MH, Büchler M, Gaspar M. Et al. Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. *Gut.* 1990 ;31:1138-1143.

45-Dabrowski A, Gabryelewicz A. et al. Oxygen-derived free radicals in cerulein- induced acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol.* 1988;23:1245-1249.

46-Kuklinski B, Buchner M, Müller T, Schweder R. Anti-oxidative therapy of pancreatitis. *Z Gesamte inn Med.* 1992 ;47:239-245.

47-Virlos IT, Mason J, Schofield D. et al. Intravenous n-acetylcysteine, ascorbic acid and selenium-based anti-oxidant therapy in severe acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol.* 2003;38:1262-1267.

48-Harpey C, Clauser P, Labrid C, et al. Trimetazidine, A Cellular Anti-ischemic Agent. *Cardiovasc Drug Reviews.* 1989; 6 (4): 292-312.

- 49- Kober G, Buck T, Sievert H, Vallbracht C. Myocardial protection during percutaneous transluminal coronary angioplasty: effects of trimetazidine. *EU Heart J.* 1992; 13: 1109-15.
- 50- Fabiani JN, Ponzio O, Emeric I, Massonet-Castel S, Paris M, Chevalier P, Jebara V, Carpentier A. Cardioprotective effect of trimetazidine during coronary arter graft surgery. *j Cardiovasc Surg* 1992;
- 51-Guarnieri C, Muscari C. Beneficial effects of trimetazidine on mitochondrial function and superoxide production in the cardiac muscle of monocrotaline - treated rats. *Biochem Pharmacol.* 1988;24:4685-4688.
- 52-Perletti G, monti E, Paracchini L. Et al. Effect of trimetazidine on early and delayed doxorubicin myocardial toxicity. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1989;302:280-289.
- 53-Unal OF, Ghoreishi SM, Ataş A, et al. Prevention of gentamicin.nduced ototoxicity by trimetazidine in animal model. *Journal of pediatric Otorhinolaryngology.*2005; 20: 193-199.
- 54-Devinder Singh, Kanwaljit Chopra.Effect of trimetazidine on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Pharmacological Research* 2004;50:623 -629.
- 55-Catroux P, Cambar J, Benchekroun N. et al. Antilipoperoxydant effect of trimetazidine in post ischaemic acute renal failure in the rat. *Adv Exp Med Biol.* 1990;264:383-388.
- 56-Charlon V, Boucher F, Clauser P. et al. Effect of a 5 day trimetazidine pretreatment in a model of ischemic and reperfused isolated rat heart: spin trapping experiments. *Adv Exp Med Biol.* 1990;264:377 -382.
- 57-Maridonneau-Parini I, Harpey C. Effect of trimetazidine on membrane damage induced by oxygen free radicals in human red cells.*Br J clin Pharmacol.* 1985;20:148-151.
- 58-Nur, İ.H., Yoldaş, A.: Pankreas'ın Morfolojik gelişimi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 6,(1-2), 148-156, 2000
- 59-Slack, J.M.: Developmental biology of the pancreas. *Development*121, (6), 1569-80, 1995

- 60-Kayalı, H., Şatiroğlu, G., Taşyürekli, M.: İnsan Embriyolojisi, 6.Baskı. İstanbul: Evrim Basım Yayım Dağıtım, s.183-185, 1989
- 61-Moore, K.L., Persaud, T.V.N.: The Developing Human, 6ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp. 280-283, 2002
- 62-Arıncı, K.,Elhan, A.: Anatomi 1. cilt. Ankara: Güneş Kitapevi, s. 261-265, 2001
- 63-Sadler, T.W. (Çeviri Editörü: Başaklar, C.): Lagman's Medikal Embriyoloji. Ankara: Palme Yayıncılık, s. 245-247, 1993
- 64-Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T.: Pathologic Basis of Disease, 6ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp. 902-929, 1999
- 65-Saraç, N.:Sindirim sistemi. Editör: Tekelioğlu, M.: Özel Histoloji. Ankara: Antip A.Ş., s. 86-88, 2002
- 66-Guyton, A.C., Hall, J.E.: (Türkçe çeviri editörü. Çavuşoğlu, H.): Tıbbi Fizyoloji, 10.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd.Şti., s. 746-749, 2001
- 67-Cormack, D.H.: Ham's Histology, 9ed. London: J.B. Lippincott Company, pp. 518-520, 1987
- 68-Leeson, T.,Leeson, R., Paparo, A.A.: Textbook of Histology, 5ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp. 357-364, 1985
- 69-Junquera, L.C., Carneiro, J.: Basic Histology, 10ed. New York: Lange Medical Books McGraw-Hill, pp. 328-331, 2003
- 70-Gartner, I.P., Haiatt, J.L.: Color Textbook of Histology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp. 341-346, 1997
- 71-Paker, Ş.: Histoloji, 11.Baskı. Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi, s. 374-377, 1993
- 72- Bradley EL, Zeppa RB: The Pancreas in textbook of surgery D.C. Sabiston (Ed) WB Saunders Co, Igaku-Shoin 13 th Edition, 1986; 1: 1170 -1187
- 73- Stephen W. Gray, Lee J. Skandalakis, Joseph S. Rowe, John E. Skandalakis. Anatomy of pancreas. Mastery of surgery: 745-757
- 74- Kara ME. The anatomical study on the rat pancreas and its ducts with emphasis on the surgical approach. Annals of Anatomy 2005; 187: 105-12

- 75- Bradley EL, Zeppa RB: The Pancreas in textbook of surgery D.C. Sabiston (Ed) WB Saunders Co, Igaku-Shoin 13 th Edition, 1986; 1: 1170 -1187
- 76- Stephen W. Gray, Lee J. Skandalakis, Joseph S. Rowe, John E. Skandalakis. Anatomy of pancreas. Mastery of surgery: 745-757
- 77- Reber HA, Way LW: Pancreas. Current surgical diagnosis and treatment. Textbook, Lawrence W. Way, 8. edition 1988: 517 -530
- 78- William E. Fisher, Dana K. Andersen, Richard H. Bell, JR., Ashok K. Saluja, and F. Charles Brunnicardi: Pankreas. Schwartz's Principles of Surgery, 2005, 8. Edition; 1221-1297.
- 79- O'Sullivan JN: Acute and chronic pancreatitis in Rochester, Minnesota, between 1940 -1969, Gastroenterology, 1972; 62: 373
- 80- William E. Fisher, Dana K. Andersen, Richard H. Bell, Ashok K. Saluja. Pancreas. In: F. Charles Brunnicardi, ed. Schwartz's Principles of Surgery. 8th ed. 2005:p.1221-1296.
- 81- Banerjee A, Kaul A, Bache E, Parberry A, Doran J, Nicholson M. An audit of fatal acute Pankreatitis. Postgrad Med J 1995; 71:472-475.
- 82- Banejee AK, Galloway S W, Kingsnorth AN. Experimental models of acute pancreatitis: review. Br J Surg. 1994; 81:1096-1103.
- 83- Demol A, Legros F, Van Laethem J. N-acetylcysteine decreases severity of acute pancreatitis in mice. International Bibliographic Information on Dietary Supplements. Pancreas. 2000;20(2):161-169.
- 84- Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y.A. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 34, 497–500.
- 85- Aebi, H. (1974). Catalase. In: Bergmeyer HU (ed). Methods of enzymatic analysis. *Academic press*: New York and London. 673–677.
- 86- Paglia, D.E., Valentine, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 70, 158–170.

- 87- Esterbauer, H., Cheeseman, K.H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation product: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In: Packer L, Glazer AN, editors. Methods in enzymology: V 186, oxygen radicals in biological systems. California: Academic Press; Methods Enzymol. 186, 407–21
- 88- Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In: Packer L, Glazer AN, editors. Methods in enzymology. Vol. 186. New York: Academic Press; 1990. p. 464–78)
- 89- Cortas NK and Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. Clin Chem 1990;36:1440-1443.
- 90- Johnson C, Kingsnorth A. Leeder P. Antioxidants in acute pancreatitis. Gut 2007; 56(10): 1439-1444.
- 91- Yuan, Y., Gong, Z., Lou, K., Tu, S., Di, Z., Xu, J.: Effects and mechanisms of somatostatin analogs on apoptosis of pancreatic acinar cells in acute pancreatitis in mice. *J Gastroenterol Hepatol* 26, (6), 683-688, 2001
- 92- Coşkun, T., Korkusuz, P., Kaya, Y., Örs, Ü., Aker, Y., Kiliç, K.: Free oxygen radical-induced acute pancreatitis. A light and electron microscopic study. *Hepato-gastroenterology* 50, 43-48, 2003
- 93- Swery, J.H., Shibuya, I., Asada, N., Niwa, K., Doolabh, K., Habara, Y., Kanna, T., Mann, G.E.: Acute oxidative stress modulates secretion and repetitive  $\text{Ca}^{2+}$  spiking in rat exocrine pancreas. *Biochimica et Biophysica Acta* 1454, 19-30, 1999
- 94- Cheung YJ, Bonventre JV, Malis CD, Leaf A. Calcium and ischemic injury. N Engl J Med 1986; 314:1670-6.2. Das DK. Redox regulation of cardiomyocyte survival and death. Antioxid Redox Signal 2001; 3:23-37.