

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

**RATLARDA AKUT NEKROTİZAN PANKREATİT**  
**MODELİNDE CANDESARTAN'IN PANKREAS**  
**MİKRODOLAŞIM BOZUKLUKLARINA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**DR. HASAN BOSTANCI**

**TEZ DANIŞMANI**  
**PROF. DR. ERCÜMENT H. TEKİN**

**ANKARA – 2007**

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

**RATLARDA AKUT NEKROTİZAN PANKREATİT**  
**MODELİNDE CANDESARTAN'IN PANKREAS**  
**MİKRODOLAŞIM BOZUKLUKLARINA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**DR. HASAN BOSTANCI**

**TEZ DANIŞMANI**  
**PROF. DR. ERCÜMENT H. TEKİN**

**ANKARA – 2007**

## İÇİNDEKİLER

|                                             |    |
|---------------------------------------------|----|
| İÇİNDEKİLER.....                            | 3  |
| KISALTMALAR.....                            | 5  |
| 1 GİRİŞ VE AMAÇ.....                        | 6  |
| 2 GENEL BİLGİLER.....                       | 8  |
| 2.1. Pankreasın embriyolojisi.....          | 8  |
| 2.2. Pankreasın anatomisi.....              | 9  |
| 2.2.1. Pankreasın bölümleri.....            | 9  |
| 2.2.2. Pankreasın damarları.....            | 11 |
| 2.2.3. Pankreasın kanalları.....            | 11 |
| 2.3. Pankreasın histolojisi.....            | 13 |
| 2.4. Pankreasın fizyolojisi.....            | 14 |
| 2.5. Akut pankreatit.....                   | 16 |
| 2.5.1. Patogenez.....                       | 16 |
| 2.5.2. Etiyoloji.....                       | 17 |
| 2.5.3. Klinik.....                          | 17 |
| 2.5.4. Fizyopatoloji.....                   | 18 |
| 2.5.5. Tanı.....                            | 21 |
| 2.5.6. Prognostik indikatörler.....         | 23 |
| 2.5.7. Tedavi.....                          | 27 |
| 2.6. Deneysel pankreatit modelleri.....     | 27 |
| 2.7. Çalışmada kullanılan parametreler..... | 29 |
| 2.7.1. Amilaz.....                          | 29 |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| 2.7.2. İnterlökin-6 (IL-6).....                             | 30 |
| 2.7.3. Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ).....     | 30 |
| 2.7.4. Myeloperoksidaz (MPO).....                           | 32 |
| 2.7.5. Matrix Metallo-Proteinaz 9 (MMP-9).....              | 32 |
| 2.8. Candesartan.....                                       | 32 |
| 3 GEREÇ VE YÖNTEM.....                                      | 34 |
| 3.1. Cerrahi prosedür.....                                  | 35 |
| 3.2. Pankreatik doku mikrosirkülasyon düzeyi ölçümü.....    | 38 |
| 3.3. Biyokimyasal analiz.....                               | 39 |
| 3.4. Histopatolojik analiz.....                             | 39 |
| 3.5. İstatistiksel analiz.....                              | 42 |
| 4 BULGULAR.....                                             | 43 |
| 4.1. Pankreatik doku mikrosirkülasyon düzeyi sonuçları..... | 43 |
| 4.2. Biyokimyasal analiz sonuçları.....                     | 43 |
| 4.3. Histopatolojik analiz sonuçları.....                   | 49 |
| 5 TARTIŞMA.....                                             | 59 |
| 6 ÖZET.....                                                 | 66 |
| 7 KAYNAKLAR.....                                            | 67 |

**KISALTMALAR**

|       |                                      |
|-------|--------------------------------------|
| ANP:  | Akut nekrotizan pankreatit           |
| AÖP:  | Akut ödematöz pankreatit             |
| CRP:  | C-Reaktif protein                    |
| PMNL: | Polimof nüveli lökosit               |
| TNF:  | Tümör nekroz faktör                  |
| HLA:  | Human lökosit antijen                |
| NK:   | Natural killer                       |
| IL:   | İnterlökin                           |
| MPO:  | Myeloperoksidaz                      |
| MMP:  | Matriks metalloproteinaz             |
| kDA:  | Kilodalton                           |
| RAAS: | Renin anjiotensin aldesteron sistemi |
| ACE:  | Anjiotensin converting enzim         |
| AT:   | Anjiotensin                          |
| NO:   | Nitrik oksit                         |
| SOR:  | Serbest oksijen radikalleri          |

## 1 GİRİŞ VE AMAÇ

Akut pankreatit etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamakla birlikte çeşitli faktörlerin etkisiyle enzimlerin ekstralüminal alanda aktive olmasıyla gelişen otolitik bir hadisedir. Hastaların %80'inde gelişen pankreatit tablosu kendini sınırlayan ve ılımlı olan, lokal ve sistemik komplikasyonları nadir olarak gelişen ve genel destek tedavisiyle düzelebilen akut ödematöz pankreatit (AÖP) tipindedir. Geri kalan %20 hastadaki tablo ise şiddetli, organ yetmezliklerinin görülebildiği, morbidite ve mortalitenin yüksek oranda seyrettiği akut nekrotizan pankreatit (ANP) şeklindedir (61).

Akut nekrotizan pankreatit lokal inflamatuvar yanıtın aşırı olması nedeni ile sistemik inflamatuvar cevap sendromu, multipl organ yetmezlikleri ve sepsisle ilişkili olarak gelişen ağır bir tablodur. ANP'te mikrosirkülasyon bozuklukları, inflamatuvar hücreler ve endotel hücreleri arasındaki etkileşimler, bakteriyel translokasyon ve inflamatuvar sitokinlerin salınımı sonucunda pankreatitin şiddeti artmakta ve mortalite oranları %40'lara kadar çıkabilmektedir. ANP'te gelişen mikrosirkülasyon bozukluklarında; vasküler permeabilite artışı, iskemi, intravasküler koagülasyon, yetersiz kapiller ve venöz drenajın yanında özellikle de kapiller staz etkili olmaktadır. Bunun sonucu olarakta ANP progresyonunda mikrosirkülasyon bozukluklarının önemli bir yer tuttuğu düşünülmektedir. Kapiller staz oluşumunda endotel yüzey proteinleri ve immün yüzey antijenleri arasındaki etkileşim ilk basamağı oluşturmaktadır (33, 64).

Renin anjiotensin aldesteron sisteminin son ürünü olan anjiotensin-II özellikle beyin, kas, kalp ve endotel hücrelerinde bilinen biyolojik etkilerinin yanı sıra, hücre proliferasyonu, ekstrasellüler matriks oluşumu, hücre büyümesi ve çeşitli maddelere karşı

endotelial bariyerde olan geçirgenlik değişiminde belirli etkilere sahiptir. Bu etkiler özellikle anjiotensin I reseptörü üzerinden gözlenmektedir. Öte yandan inflamasyon, iskemi ve mikrodolaşım bozukluklarında ise anjiotensin II reseptörünün upregülasyonu sonucunda azalmış DNA sentezi, protein ve ekstrasellüler matriks yapımında azalma gözlenmiştir (78).

Akut pankreatitte randomize çalışmalar incelendiğinde 12 saatten önce gelişen pankreatik ödem, mikrovasküler dolaşım bozukluğu ve ekzokrin fonksiyon bozukluğunun reversibl olduğu, fakat 12 saatten sonra bu etkilerin kalıcı olduğu ve pankreatik stellate hücre proliferasyonu aracılığı ile pankreatik fibrozis geliştiği gösterilmiştir. Sınırlı sayıdaki çalışmalarda anjiotensin II reseptör antagonisti olan candesartan'ın pankreas endotel hücrelerini etkileyerek kapiller permeabilitede azalma ve kronik dönemde fibrozis gelişiminde gerilemeye neden olduğu bulunmuştur. Ancak anjiotensin II reseptör antagonisti olan candesartan'ın pankreatik mikrodolaşım ve vasküler endotel hücreler üzerindeki etkisi net olarak anlaşılamamıştır (78, 13).

Bu bilgiler ışığında bu çalışmada bir anjiotensin II reseptör antagonisti olan candesartan kullanılarak pankreatik dokudaki endotel apoptozisi ve mikrovasküler dolaşımda olan değişikliklerin lazer doppler flowmeter, immünohistokimya ve biyokimyasal parametreler yardımıyla ortaya konulması amaçlanmaktadır.

## 2 GENEL BİLGİLER

Pankreas ismi ilk kez M.Ö. 310-250 yıllarında İskenderiyeli hekim Eristratos' un yazılarında ifade edilmiştir ve ismi Ephesus'lu Rufus tarafından verilmiştir. Organ herhangi bir kıkırdak veya kemik içermediği için bu isim verilmiştir. 1642 yılında Alman doktor Johann Wirsung tarafından Wirsung kanalı tarif edilmiştir. 1720 yılında Vater tarafından kanalın papillaya açılım şekli ortaya konulmuştur. 1734 yılında ise İtalyan anatomist G.D Santorini tarafından onun ismi ile anılan aksesuar kanal tanımlanmıştır (62).

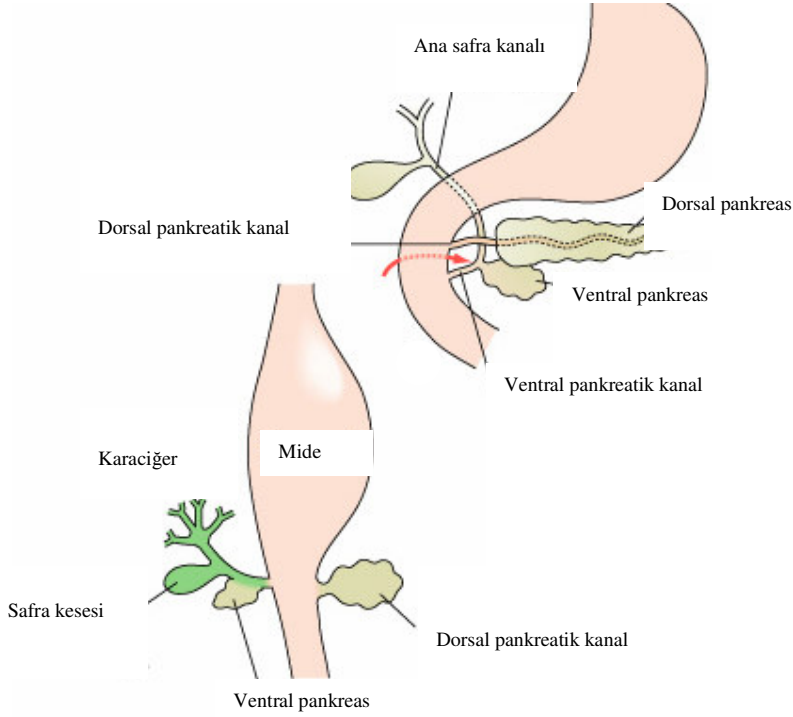
Pankreas farklı konjenital anomalilere sahip olabilen, retroperitoneal bölgede yer alan glandüler yapıda bir organdır.

### 2.1. Pankreasın embriyolojisi

Pankreas, fetal hayatın dördüncü haftasında ön barsağın kaudal kısmından arka ve ön pankreas tomurcukları olarak oluşur. Her iki çıkıntı da sırasıyla 90 ve 270 derecelik açıyla sağa döner ve ventral pankreasın çıktığı noktanın yanında birbiriyle birleşir. Daha sonra duodenum döndükçe pankreas da sola kayar. Erişkinde sadece başın kaudal kısmı ve processus uncinatus ön pankreastan kaynaklanır. Başın kranial parçası, gövdenin tümü ve kuyruk dorsal pankreastan köken alır. Dorsal pankreas kanalının büyük kısmı ventral pankreas kanalı ile birleşir ve ana pankreas kanalını (Wirsung) oluşturur. Küçük bir kısım aksesuar kanal (Santorini) olarak kalır. İnsanların %5-10'unda ventral ve dorsal pankreas kanalları birleşmez ve pankreas bölgelerinin çoğu Santorini kanalı ile minor papillaya açılır. Sadece ventral pankreasın küçük bir kısmı safra kanalı ile ortak olarak papilla vateriye açılır (62) (Resim I).



**Resim 1.** Pankreasın embriyolojik gelişimi (62).



## 2.2. Pankreasın anatomisi

Pankreas karın arka duvarında 1. ve 2. lomber vertebra hizasında, çoğunlukla hareketsiz, retroperitoneal yerleşimli bir organdır. Erişkin insanda pankreas bezi 80-90 gr ağırlığında, ortalama 15-20 cm uzunluğunda, 3 cm eninde ve 1-1.5 cm kalınlığındadır. Pankreas, sağda duodenum, solda dalak arasında retroperitoneal olarak transvers şekilde uzanır. Üstte bursa omentalis, önde transvers mezokolon ve aşağıda omentum majus ile ilişkilidir (5) (Resim II).

### 2.2.1. Pankreasın bölümleri

Pankreas anatomik olarak baş, unsinat proses, boyun, gövde ve kuyruk olarak 5 bölüme ayrılır.

**2.2.1a. 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 ve vena kava inferior yer alır. Yukarıda portal venden, aşağıda mezenterik vene uzanan hayali bir plan pankreas baş kısmını boyun kısmından ayırır.

**2.2.1b. Unsinat proses:** Portal ven ve superior mezenterik damarların arkasında, aort ve inferior vena kavanın önünde yer alır. Sagittal kesitte unsinat proses superior mezenterik arter ile aort arasında, sol renal venin üzerinde, duodenumun 3. ve 4. parçasının altındadır. Unsinat proses her insanda olmayabilir veya superior mezenterik damarları tamamen çevreleyebilir.

**2.2.1c. Boyun:** Pankreasın görece 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.

**2.2.1d. 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 periton 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.

**2.2.1e. Kuyruk:** Splenorenal ligamanın içinde yer alır. Dalak hilusuna kadar uzanır (50).

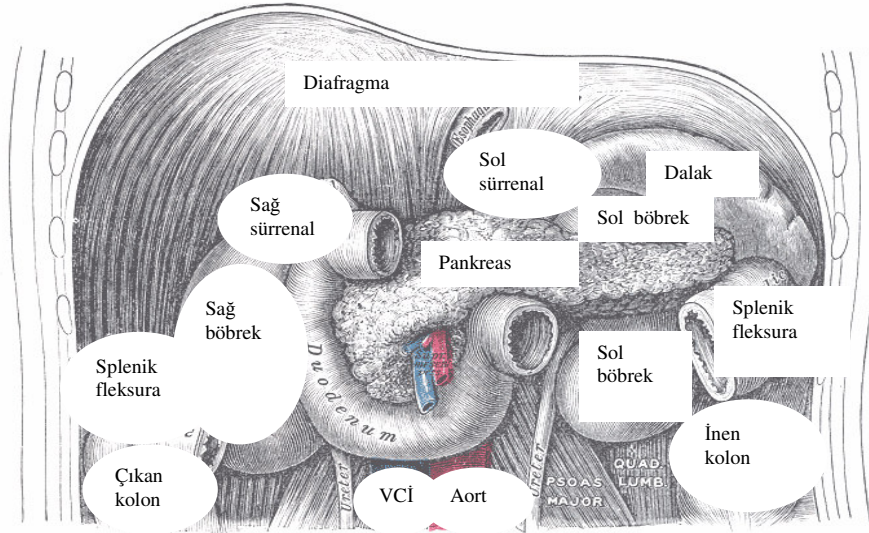
### ***2.2.2. Pankreasın damarları***

Pankreas arteriyel kan akımını ana hepatik arter, superior mezenterik arter ve splenik arterden almaktadır. Superior pankreatikoduodenal arter gastroduodenal arterin, inferior pankreatikoduodenal arter, superior mezenterik arterin dalıdır. Splenik arter, pankreasın üst kenarı boyunca organa pek çok küçük dallar verir. Pankreasın venleri arterlere paralel olarak seyreder. Üst pankreatikoduodenal venler vena portaya, alt pankreatikoduodenal venler superior mezenterik vene dökülür (50) (Resim III).

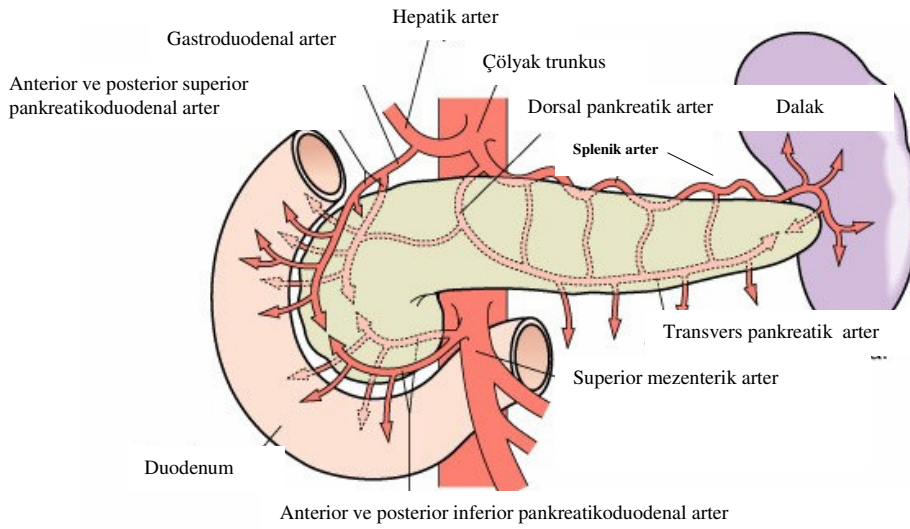
### ***2.2.3. Pankreasın kanalları***

Pankreasın ana kanalı olan Wirsung, organın kuyruk kısmından başlayıp, sağa doğru gövde, boyun ve baş kısmını geçerek Papilla Vateri'ye ulaşır. Yaklaşık 15-20 cm uzunluğunda 3-3.5 mm 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 (Resim IV). %10 vakada Santorini tüm sekresyonları taşır, Wirsung küçük veya yoktur (50).

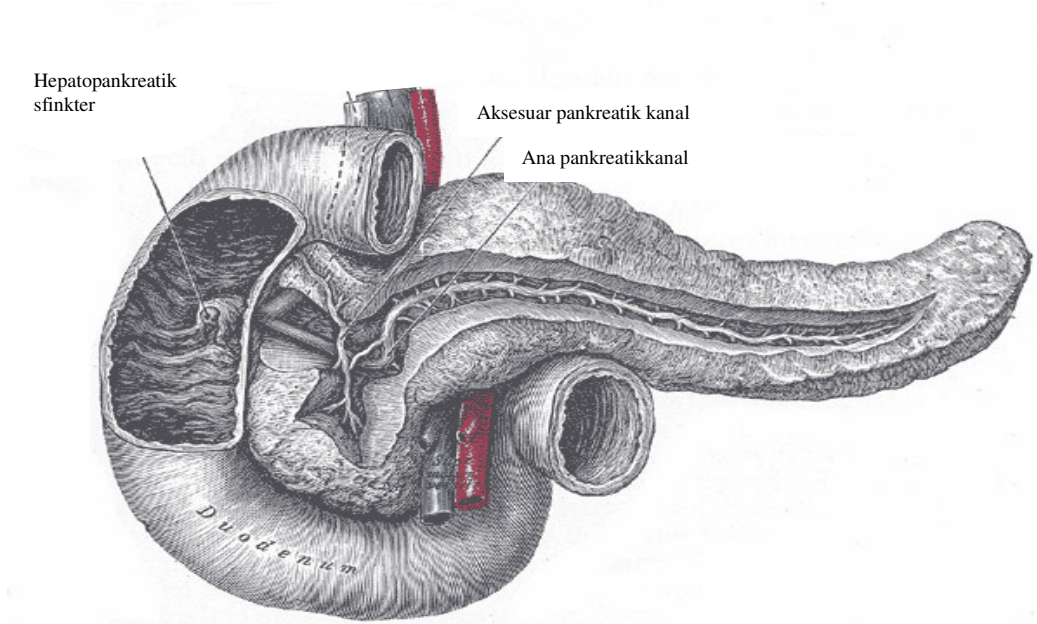
**Resim 2.** Pankreasın komşulukları (50).



**Resim 3.** Pankreasın damarsal yapısı (62).



**Resim 4.** Pankreasın kanalları (50).



### 2.3. Pankreasın histolojisi

Pankreas 60-160 gr ağırlığında sindirim enzimleri ve hormonlar üreten endokrin ve ekzokrin bir salgı organıdır. Enzimler ekzokrin kısmın hücreleri tarafından depolanır ve salınır. Endokrin salgılar ise Langerhans adacıkları olarak bilinen endokrin dokuda bulunan hücre grupları tarafından sentezlenir.

Dıştan gevşek ve ince bir kapsül ile sarılı olan pankreasın ekzokrin ünitesi birleşik tübüloalveoler biçimli olup saf seröz salgı yapar. Ribozomdan zengin bazal sitoplazma bazofilik boyanır. Salgı ürünü olan zimojenik granüller apikal sitoplazmada toplanır. Bu bölüm asidofilik boyanır. Asinüsü takip eden interkalar duktus tek katlı kübik epitelle kaplıdır. Hücrelerin apikalinde komşu hücrelerin membranları arasında zonula okludens,

zonula adherens ve desmozom tipi bağlantı kompleksleri bulunur. Pankreasın her iki kanalı da yüksek prizmatik veya yalancı çok katlı epitelle döşelidir. Arada Goblet hücreleri ve enteroendokrin hücreler de yer alır.

İnsan ekzokrin pankreası su ve iyonlara ek olarak sindirim enzimleri ve proenzimler salgılar. Bunlar, tripsinojen, kimotripsinojen, karboksipeptidaz, deoksiribonükleaz, ribonükleaz, triaçilgliserol lipaz, fosfolipaz A2, elaztaz ve amilaz' dır. Salgı başta sentroasiner hücreler ve küçük interkalar kanalları oluşturan hücreler tarafından üretilir. Asinüslerde az miktarda, proteinden zengin sıvı üretilirken interkalar kanal hücrelerinde sodyum ve bikarbonattan zengin, daha fazla miktarda sıvı salgılanır. Pankreas salgısı duodenum mukozasındaki enteroendokrin hücreler tarafında üretilen sekretin ve kolesistokinin hormonları tarafından kontrol edilir. Hormonal etkinin yanı sıra pankreasın otonomik innervasyonu da salgılamada önemlidir. Sempatik sinir lifleri pankreasın kan akımını regüle ederken, parasempatik lifler de sentroasiner hücrelerin ve asinüsün aktivitesini stimüle eder (62, 29).

#### **2.4. Pankreasın fizyolojisi**

Pankreas hem ekzokrin, hem de endokrin salgı yapan bir bezdir. Organın endokrin sekresyonu (başlıca insülin, glukagon ve somatostatin) yaşamın devam etmesi için gerekli olup Langerhans adacıklarından salgılanır. Adacıklar morfoloji ve boyanma özelliklerine göre başlıca üç tip hücreden oluşur.

- BETA hücreleri: Adacıkların %60-80'ini oluşturur ve insülin salgırlar.
- ALFA hücreleri: Adacıkların %10-20'sini oluşturur ve glukagon salgırlar.
- DELTA hücreleri: Adacıkların yaklaşık %10'unu oluşturur ve somatostatin salgırlar (27).

Pankreasın temel ekzokrin salgı ünitesi asinüstür ve günde ortalama 1500-2000 ml berrak, izotonik ve alkali (pH: 8.0-8.3) ekzokrin salgısı vardır. Bu salgı 20'den çok sindirim enzimini içinde bulundurur. Ekzokrin salgıdaki başlıca katyonlar Na ve K olup plazma konsantrasyonlarıyla aynıdır. Başlıca anyonlar ise  $\text{Cl}^-$  ve  $\text{Mg}^{+2}$ , dur. Ekzokrin salgının akım hızı artıkça  $\text{HCO}_3$  konsantrasyonu artarken,  $\text{Cl}^-$  azalır. Pankreastan salgılanan bu ekzokrin salgıdaki bikarbonat iyonları, mideden duodenuma boşalan asit kimusun nötralize edilmesinde de önemli rol oynar. Ekzokrin pankreas salgısı bazal koşullarda 0.3 mg/ml protein içerir. Bu proteinlerin %90'ını enzimler ve proenzimler oluşturur. Pankreas ekzokrin salgısı temel üç besin maddesinin sindirimini sağlayan enzimleri içerir: protein, karbonhidrat ve yağların sindirimi. Proteolitik enzimler; tripsin, kimotripsin, karboksipolipeptidaz, ribonükleaz ve deoksiribonükeoz'dan ibarettir. Bunların içinde en fazla miktarda olan tripsindir. Tripsin ve kimotripsin proteinleri peptidlere parçalar. Karboksipolipeptidaz peptidleri karboksi ucundan ayırarak aminoasitleri parçalar. Nükleazlar ise nükleik asitleri parçalar. Karbonhidratları parçalayan enzim amilazdır. Bu enzim karbonhidratları parçalayarak disakkaritleri ve az miktarda trisakkaritleri oluşturur. Pankreasın yağ sindiriminden sorumlu enzimleri ise lipaz, kolesterol esteraz ve fosfolipazdır. Proteolitik enzimler pankreas hücrelerinde sentez edildiklerinde inaktif formdadır. Bunlar intestinal kanala salgılandıktan sonra aktif duruma geçerler. Pankreas salgılarındaki proteolitik enzimlerin barsağa dökülünceye kadar aktif duruma geçmemeleri önemlidir. Çünkü tripsin ve öteki enzimler pankreasın kendisini sindirebilirler. Pankreas asinuslarına proteolitik enzimleri sekrete eden hücreler aynı zamanda tripsin inhibitörü adı verilen maddeyi de salgırlar. Öteki proteolitik enzimlerinde aktivasyonu tripsinle olduğu için, tripsin inhibitörü tümünün aktivasyonunu engeller. Bununla beraber pankreas ağır şekilde hasara uğrar veya kanalı

tıkanır, pankreasın haraplanan kısmında çok miktarda enzim birikir. Bu durumda tripsin inhibitörü yetersiz kalır ve pankreas salgısı aktive olup, birkaç saat içinde tüm pankreası sindirebilir, sonuçta akut pankreatit gelişir (27).

Pankreasın ekzokrin salgısı, sinirsel ve hormonal mekanizmalarla kontrol edilir. Sinirsel uyarılardan nervus vagus sorumludur. Direkt vagal uyarı enzimden zengin düşük volüm pankreatik salgyya neden olur. Nervus vagus aynı zamanda mideden asit salınımı yoluyla indirekt olarak ekzokrin salgı üzerine etki eder. Hormonal kontrolde, sekretin ve kolesistokinin temel olarak rol alır. Bu iki hormonun dışında gastrin, pankreatik polipeptid, glukagon gibi diğerk bazı hormonlarda hormonal kontrolde yer alırlar (27).

## **2.5. Akut pankreatit**

Akut pankreatit; enzim aktivasyonu, interstisyel sızmalar ve pankreasın kendi enzimleri ile kendini sindirmesi sonucu oluşan (otodigesyon), sık görülen ve bakteriyel olmayan, karın ağrısı, bulantı ve kusma ile kendini gösteren bir hastalıktır. Akut pankreatit oldukça hafif formdan hayatı tehdit eden multiorgan yetmezliklerine kadar giden geniş ve değişken bir tablo içerir. Lokal veya sistemik komplikasyonlara yol açarak sepsis ve/veya şok sonucu mortaliteye neden olabilir. Biliyer sepsis, pankreatik nekroz, psödokist, enfeksiyon ve sepsis gelişimi sonucunda mortalite oranları %50-80'lere kadar çıkabilmektedir (6, 59, 68).

### **2.5.1. Patogenez**

**2.5.1a. Asiner hücre hasarı:** Akut pankreatit esnasında sindirim enzimleri ve proteazlar tripsinojenin aktivasyonu sonucunda asiner hücre hasarına neden olurlar. Artmış intrasellüler



kalsiyum ile tripsinojenin aktif formunun korunması sonucunda hücre hasarı oluşumu devam eder (23, 73).

**2.5.1b. Lokal inflamasyon:** Asiner hücre hasarı PMNL'in perivasküler pankreatik parankime göç etmesine neden olur. Saatler içinde hiperaktif monositlerin asiner hücre hasarının olduğu yere gelmesi sağlanır ve inflamatuvar mediatörlerin salınımı başlatılır. Asiner hücre hasarı devam ettikçe interlökin (IL), tümör nekroz faktör (TNF), nitrik oksit, kompleman ve serbest oksijen radikalleri gibi mediatörler dolaşıma salınmaya devam ederler (83).

**2.5.1c. Sistemik inflamasyon ve uzak organ hasarı:** Akut pankreatit başlangıç döneminde sadece sitokinler olmamasına rağmen gelişen sistemik inflamasyonda sitokinler önemli rol oynarlar (83).

### **2.5.2. Etiyoloji**

Alkolizm ve safra yolu hastalıkları tüm akut pankreatit vakalarının %90'ından sorumludur. Tüm bu nedenler içinde biliyer patolojiler en sık nedeni oluşturur (34). Genellikle ampullada taşın impakte olması sonucunda pankreatik kanal basıncı artar. Bunun sonucunda hem sindirim enzimleri ve lizozomlar aktive olurlar hem de pankreatik enzimler pankreatik parankim içine direkt olarak geçerler (3).

### **2.5.3. Klinik**

Akut pankreatitte karşımıza çıkan klinik spektrum son derece geniştir. %90-95 olguda hafif ve kendi kendini sınırlayan bir tablo görülürken, %5-10 olguda ise şiddetli ve hayatı tehdit eden ataklar görülebilmektedir. Akut pankreatit klinik olarak hafif ve ağır pankreatit şeklinde ayrılırken, morfolojik olarak ise ödematöz ve nekrotizan olarak

sınıflandırılır. Klinik tablo hafif bir karın ağrısından, hipotansiyon, metabolik düzensizlikler, sepsis ve ölüm gibi çok ağır komplikasyonlar içeren tablolara kadar değişebilir (10). Tüm akut pankreatitli olguların %20-30'unda nekroz gelişmektedir. Sekonder pankreatik enfeksiyonlar akut nekrotizan pankreatitli hastalarda %40-70 oranında gelişmekte olup mortalitenin en sık nedenidir. Enfekte nekroz %50 oranında mortalite riskini beraberinde getirmektedir (4, 66, 74).

#### **2.5.4. Fizyopatoloji**

Akut pankreatitte etkin mekanizmanın aktive olmuş pankreatik enzimlerden çok aktif hale geçmiş PMNL'den salınan oksidan moleküller olduğu düşünülmektedir. Lökositlerden ortaya çıkan mediyatörler ve sitokinler tahrip edici özelliğe sahiptirler. Sitokinler düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir. Normal dokuda bulunmazlar. Dış kaynaklı bir uyarı hücreyi sitokin üretmek için uyarır. Ortaya çıkan sitokin kendisinin ve diğer bazı sitokinlerin üretimini artırır. Akut pankreatitte rol oynadığı düşünülen sitokinler; IL-1 ve TNF- $\alpha$ 'dır. Ayrıca IL-2, IL-6, IL-10, nitrik oksit (NO) ve serbest radikaller akut pankreatitin ilerlemesinde rol oynarlar. IL-1 ve TNF- $\alpha$  enfeksiyon ve inflamasyona ilk cevap olarak ortaya çıkan sitokinlerdir. Akut pankreatitte görülen ateş, hipotansiyon, yaygın damar içi pıhtılaşma, şok gibi lokal ve sistemik bir çok bulgudan sorumludurlar. Bu lökosit ürünleri damar duvarına doğrudan etki ederek damar duvarı geçirgenliğini arttırırlar. Bunun sonucu olarakta ödem ve trombüs oluşumuna yol açarlar. Bu da pankreas mikrosirkülasyonunu bozar (22). Pankreatite bağlı gelişen komplikasyonlarda multiorgan yetmezliği erken ve geç faz olmak üzere iki şekilde karşımıza çıkmaktadır. Geç fazda multiorgan yetmezliği süperenfeksiyona ikincil gelişen sepsise bağlıdır. Erken dönemde ise mikrodolaşım bozuklukları multiorgan

yetmezliğinin patogeneğinde önemli bir yere sahiptir (55). Akut pankreatitteki dolaşım bozukluklarının mekanizması net olarak açık olmamakla birlikte şu ana kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde kapiller endotel hücrelerinin bu fenomende önemli bir yeri olduğu görülmektedir (24). Günümüz bilgileri ışığında vasküler endotel hücrelerinin immün hücrelerle etkileşimi sonucunda oluşan kapiller staz ana etken olarak görülmektedir. Kapiller staz oluşumunda endotel yüzey proteinleri ve immün yüzey antijenleri arasındaki etkileşim ilk basamağı oluşturmaktadır (63).

Akut pankreatit seyrinde ilk değişiklikler, pankreasın interstisyel septumu boyunca yer alan yağ dokusunda nekroz ve az miktarda PMNL infiltrasyonu şeklinde başlar. Bu dönemde asiner hücreler sağlamdır. İnterstisyumda ödem ve hücre infiltrasyonu ile karakterize histopatolojik değişiklikler oluşur. Bu tablo ödematöz pankreatit olarak adlandırılır. Olguların %70-80'inde patoloji bu haliyle sınırlı kalma eğilimi gösterir. Olaya glandüler hücreler ve yağ dokusunun koagülasyon nekrozu eklenirse nekrotizan pankreatit tablosu gelişir. Nekroz pankreasın tümünü uniform olarak tutmayabilir. Nekrotik alanlar arasındaki sağlam bölgeler pankreasa benekli bir görünüm kazandırır. Damar duvarlarının aktive elastaz nedeniyle tahrip olması sonucu hemorajik pankreatit gelişir. Hemoraji dokuları diseke ederek cilt altına kadar ulaşabilir. Ölü dokular, pankreatik sıvı, kan ve yağ damlacıkları pankreas içinde veya kenarında birikerek psödokistlere neden olur. Bu psödokistler retroperitoneal olarak büyüyebildikleri gibi, komşu organlara bası yapacak şekilde herhangi bir yönde büyüyebilirler. Aktive olmuş pankreas enzimleri ve inflamatuvar hücrelerin peritona irritatif etkileri sonucu sıvı kolleksiyonu oluşur. Bu sıvı en sıklıkla omentum minusta olmak üzere intraperitoneal (asit), diyafragmatik lenfatikler yoluyla intraplevral (plevral efüzyon) olabilir. Nekrotik materyal ve pankreas sıvısı içeren kolleksiyonların enfekte olması sonucu pankreas

apseleri meydana gelebilir. Akut pankreatite neden olan olay ne olursa olsun tablo aynıdır (38).

Patolojik olaylar tanımlanırken iki gruba ayrılarak incelenmektedir;

#### **2.5.4.1a. Akut ödematöz pankreatit**

Makroskopik olarak, gland büyük, çevredeki mezenter ve omentumda beyazımsı gri renkli, sertçe yağ nekrozu alanları dikkati çeker. Ancak ödematöz pankreatitte yağ nekrozu fazla değildir ve çok defa mikroskopik düzeyde kalır. Genellikle karın içinde açık pembe renkli bir sıvı vardır. Nekroz görülmez. Mikroskopik olarak pankreas lobülleri cam gibi bir görünüm almıştır ve içleri inflamatuvar hücrelerle, özellikle PMNL ile doludur. Asiner hücreler genellikle bozulmamıştır. Ultrastrüktürel incelemede asini hücrelerinin lümen kenarındaki mikrovillilerinin kaybolduğu, endoplazmik retikulum ve mitokondrilerinin bozulduğu görülür. Enzimleri depolayan zimojen granüllerin membranları sağlam olup, büyüklük ve dansiteleri normaldir. Kapiller ve lenfatik ağlar genişlemiş olabilir, ancak tromboz görülmez (38).

#### **2.5.4.1b. Akut nekrotizan pankreatit**

Makroskopik olarak gland şişmiş ve büyümüştür. Retroperitoneal alanda, duodenum, kolon ve mide gibi komşu organlarda belirgin ödem vardır. Karın üst bölümünde yaygın yağ nekrozları saptanır. Pankreatitin ağırlığı ile pankreas boşluğunda kirli kahverengimsiyah renkli bir sıvı bulunur. Retroperitoneal bölgede, ağır olgularda kolon mezosunda ve dalak pedikülünde kanamalar saptanır. Mikroskopik olarak pankreasın tümü nekroze olabileceği gibi, yer yer normal ve nekroze pankreas yanyana da görülebilir. Nekroz için sabit bir bulgu, asini lobüllerini bekleyen kapiller arteriol ve venüllerdeki tıkanmalardır. Prelobüler

damarların tıkanmaları nekroz için tipiktir. Nekroz alanlarının yanında, ödemli, mononükleer hücre infiltrasyonu alanları da görülür (61).

#### **2.5.5. Tanı**

**2.5.5.1a. Semptom ve klinik bulgular:** Akut pankreatitte, hastanın ilk ve en önemli şikayeti epigastriumdan başlayıp sırta doğru yayılan, kuşak tarzında ve çok şiddetli karın ağrısıdır. Ağrı devamlı olup künt ya da batıcı tarzdadır. Hafif pankreatitli olgularda ağrı genellikle 1-3 gün devam eder ve daha uzun süren ağrı pankreatitin ciddi olduğunu gösteren önemli bir bulgudur. Pankreasın retroperitoneal yerleşimi nedeniyle başlangıçta şiddetli ağrıya rağmen, abdominal hassasiyet ve defans yoktur. Bu yüzden akut karın ağrısı olan ancak fizik muayenede karın bulguları normal olan olgularda akut pankreatit ihtimali mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Bulantı ve kusma vakaların %80'inde vardır. Olguların %60-90'ında ateş mevcuttur. Ateş varlığı infeksiyon olduğu anlamına gelmez. Yüksek ateş varlığı; enfekte pankreatik nekroz, abse, pnömoni ve kolanjit gibi septik olaylara bağlı olabilir (4,66). Periumblikal bölgede (Cullen belirtisi), Lomber boşluklarda (Grey Turner belirtisi), inguinal ligamentin altında (Fox belirtisi) mavimsi mor lekeler, hemorajik pankreatiti gösteren fasiyal tabakalar boyunca subkutan dokuya kan veya kanlı asitin yayılmasıyla oluşan ve nadir rastlanan lezyonlardır. Hipokalsemik tetani nadir rastlanan (%1) ve kötü prognozu gösteren bir bulgudur. Subkutan yağ nekrozuna bağlı eritema nodozum benzeri lezyonlara hastalığın ileri evrelerinde rastlanabilir. İkter vakaların % 30'unda görülür. Akut antral gastrit ve duodenite bağlı minor mukozal kanamalar olguların % 20'inde görülür. Hastaların %80'inde oligüri, proteinüri ve lökositüri görülebilir. %20-25 oranında akut böbrek yetmezliği görülebilir ve bu durum %50 fatal seyirlidir. Renal ven trombozu ve renal kortikal nekroz nekrotizan pankreatitin fatal komplikasyonlarıdır (62). Akut pankreatit olgularında, inflamatuvar olayın

diafragmatik lenfatikler aracılığı ile toraksa geçmesi ve dolaşımdaki toksik maddelerin oluşturduğu alveol harabiyetine bağlı pulmoner semptom ve bulgular vakaların %20-40'ında görülür. Olguların 1/3'ünde solda daha sık olmak üzere her iki diafragmada yükselme, solda daha sık olmak üzere plevral effüzyon, akciğer alt loblarında infiltrasyon ve atelektazi, akut pankreatite eşlik eden bulgulardır. ARDS %20 oranında gelişir ve hastalığın şiddeti ile paralel olup kötü prognoz işaretidir. Kusma, retroperitona ve barsak lümenine sıvı kaçıışı, hemorajiler sonucu hipotansiyon ve taşikardiden ağır şoka kadar değişen ölçülerde kardiyovasküler depresyon bulguları ortaya çıkar.

**2.5.5.1b. Laboratuvar testleri:** Akut pankreatitte serum amilaz ve serum lipaz düzeyleri hala en sık kullanılan testlerdir. Ancak serum amilazının duyarlılığı pankreatitte düşüktür. Çünkü pankreatitle ilişkili olmadan da amilaz yüksekliği görülebilmektedir (15). Ancak karın ağrısı ile birlikte olan serum amilaz ve lipaz yüksekliğinde tanıdaki doğruluk oranı %90-95'tir (36).

#### **2.5.5.1c. Radyolojik testler**

- Karın grafilerinde sol üst kadranda sentinal-loop bulgusu veya yaygın ileus tablosu görülebilir (48).
- Karın ultrasonografisi tanıda kullanılan diğer bir görüntüleme yöntemidir. Ucuz, kolay ve noninvazivlik gibi avantajları yanında yapan kişinin yorumlarına göre tanı koyduruculuk değerinin değişmesi gibi dezavantajları da vardır. Ancak biliyer sistemin değerlendirilmesinde önemli ipuçları verebilmektedir (8).
- Oral ve intravenöz kontrastlı çekilen komputeze tomografi ise pankreatitin tanı ve tedavisinde son derece önemli bir yere sahiptir. Tomografi bulgularına göre Baltazar sınıflaması kullanılabilir;

A: Normal,

B: Pankreatik ödem,

C: Peripankreatik yağ anormallikleri,

D: Tek sıvı koleksiyonu,

E: Multipl sıvı koleksiyonları veya gaz (11).

- Magnetik rezonans kolanjiopankreatografinin kullanımı sınırlıdır (17).
- Endoskopik retrograt kolanjiopankreatografi (ERKP) genellikle hafif, komplike olmayan pankreatitlerde kullanılır (18).

#### ***2.5.6. Prognostik indikatörler***

- Ranson kriterleri akut pankreatit için prognostik indikatör olarak kullanılan en önemli kriterlerdendir (56) (Tablo I).

**Tablo I.** Ranson kriterleri.

|                                                              | Non-biliyer akut pankreatit | Biliyer akut pankreatit |
|--------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| <b>İlk başvuru</b>                                           |                             |                         |
| <i>Yaş</i>                                                   | >55                         | >70                     |
| <i>Lökosit sayısı (<math>\times 1000/\text{mm}^3</math>)</i> | >16                         | >18                     |
| <i>Kan şekeri (mg/dL)</i>                                    | >200                        | >220                    |
| <i>AST (IU/L)</i>                                            | >250                        | >250                    |
| <i>LDH (IU/L)</i>                                            | >350                        | >400                    |
| <b>Başvurudan sonraki 48. saatte</b>                         |                             |                         |
| <i>Hematokritte düşme</i>                                    | >10                         | >10                     |
| <i>BUN artışı (mg/dL)</i>                                    | >5                          | >2                      |
| <i>Baz açığı (mEq/L)</i>                                     | >4                          | >5                      |
| <i>Sıvı replasmanı (L)</i>                                   | >6                          | >4                      |
| <i>PaO<sub>2</sub> (mmHg)</i>                                | <60                         | <60                     |
| <i>Kalsiyum (mg/dL)</i>                                      | <8                          | <8                      |

Ranson Degeri-Mortalite ilişkisi:

0-2:Mortalite %2

3-4: Mortalite %15

5-6: Mortalite %40

7-8: Mortalite %100



- Bunun yanında modifiye Glasgow kriterleride başvurudan sonra geçen ilk 48 saat içinde kullanılabilen kriterdir (6, 62) (Tablo II).

**Tablo II.** Modifiye Glasgow kriterleri.

| Kriterler                                                    | Değerler |
|--------------------------------------------------------------|----------|
| <i>Yaş</i>                                                   | >55      |
| <i>Lökosit sayısı (<math>\times 1000/\text{mm}^3</math>)</i> | >15      |
| <i>Kan şekeri (mg/dL)</i>                                    | >180     |
| <i>BUN (mg/dL)</i>                                           | >45      |
| <i>LDH (IU/L)</i>                                            | >600     |
| <i>Albumin (g/dL)</i>                                        | <3.3     |
| <i>PaO<sub>2</sub> (mmHg)</i>                                | <60      |
| <i>Kalsiyum (mg/dL)</i>                                      | <8       |

Modifiye Glasgow değeri 3 ve 3' ten büyük ise ciddi akut pankreatit olarak kabul edilir ve mortalite ve komplikasyon oranlarının arttığı gözlenir.

- Bunların yanında APACHE-II skarlama sistemi akut pankreatitin şiddetinin belirlenmesinde ve hastanın prognozunun değerdendirmesinde kullanılmaktadır (40).

APACHE-II kriterleri:

A- Fizyolojik değışkenler;

- Isı
- Ortalama arteryel kan basıncı (mmHg)
- Nabız
- Solunum sayısı
- Arteryel pH
- PaO<sub>2</sub> (mmHg)
- Serum sodyumu
- Serum potasyumu
- Serum bikarbonat (mmol/L)
- Serum kreatinin seviyesi (mg/dL)
- Hematokrit (%)
- Beyaz küre sayısı
- Glasgow koma skoru

B- Yaş

C- Kronik sağıık problemi

APACHE II skoru 10'dan düşük olduğunda mortalite oranının oldukça az olduğü; skor 10-16 olduğunda mortalite oranının %20, 16'dan yüksek olduğunda mortalitenin %35'e yükseldiğı görölmüşür.

### **2.5.7. Tedavi**

Hafif seyreden akut pankreatitlerde tedavi destek tedavisi şeklindedir. Akut nekrotizan pankreatitlerde ise tedavi yaklaşımı daha agresif şekilde yürütülmelidir. Akut pankreatitlerde tedavi yaklaşımları şu şekilde sıralanabilir (62);

- Sıvı-elektrolit tedavisi
- Ağrının kesilmesi
- Beslenmenin düzenlenmesi
- Oluşan enfeksiyonların tedavisi
- Terapotik ERKP ve safra yolu hastalıklarının tedavisi
- Etyolojide safrataşı olan pankreatitlerde kolesistektominin zamanlaması
- Cerrahi tedavi yöntemlerinin uygulanması

### **2.6. Deneysel pankreatit modelleri**

- Kolinden eksik ethioninli diyetle oluşturulan pankreatit; bu deneysel modelin herhangi bir injeksiyon veya cerrahi manüplasyon gibi invaziv komponentleri olmamasına rağmen karaciğer, beyin gibi diğer organlarda da toksik etkiler oluşturması nedeniyle ideal bir yöntem değildir (43).
- Arjininle oluşturulan pankreatit; klinikte arjininle ilişkili pankreatit olgusu son derece nadir olduğu için genellikle ideal bir yöntem olarak kabul edilmez (57).
- Sekretagog kullanımı ile oluşturulan pankreatit; cerulein, karbakol ve organofosfat gibi bezin salgı fonksiyonunu uyaran sekretagog kullanımı ile pankreatitin oluşturulmasıdır. Bunlardan cerulein kullanımı ile oluşturulan pankreatit insanlarda oluşan pankreatitin başlangıç dönem bulgularına benzediği için cerulein pankreatit

oluşturulmasında sık kullanılan bir sekretagogdur (16).

- Pankreatik vasküler beslenmenin bozulması ile oluşturulan pankreatitler; klinikte özellikle hipovolemik şok tablosunda gelişen pankreatitler için kullanılan bir modeldir (71).
- Kapalı duodenal loop ile oluşturulan pankreatitler; hem prosedürün zorluğu, hemde hayvana yüklediği ağır cerrahi prosedür nedeniyle çok sık kullanılmayan bir yöntemdir. Klinik olgularla uyumluluğu sınırlıdır (72).
- Pankreatik kanal ligasyonu ile oluşturulan pankreatit; özellikle safra taşının oluşturduğu obstrüksiyon sonucu oluşan pankreatit fizyopatolojisine uygun bir metoddur. Ancak nekrotizan pankreatit oluşturmak bu yöntem uzun zaman alabilir (32).
- Pankreatik kanala infüzyon ile oluşturulan pankreatit; özellikle klinikle uygunluk gösteren bir modeldir. İntravenöz olarak verilen cerulein ile birlikte safra tuzunun biliopankreatik kanala infüzyonla verilmesi hemorajik-nekrotizan pankreatitin oluşturulmasında son derece etkili bir yöntemdir. Günümüzde nekrotizan pankreatit için oldukça sık kullanılan bir metoddur. Ancak bu metotta kullanılan infüzyonun belirli basınç ve volümde uygulanması gerekmektedir (32).
- Biyolojik faktörlerin kullanımı ile oluşturulan pankreatit; fizyopatolojide yer alan fosfolipaz A<sub>2</sub>, siklooksijenaz 2, heat şok proteinleri, substans P ve anjiotensin II gibi maddelerin kullanımı ile oluşturulan pankreatittir (30).

## 2.7. Çalışmada kullanılan parametreler

**2.7.1.Amilaz:** Pankreatitli hastaların 3/4'ünde başlangıçta yükselerek 7-10 gün süreyle yüksek kalır. Zirve değerine 12-72 saat arasında ulaşır. Hassasiyet %75-92 ve özgünlüğü %20-60'dır. Akut ataktan 10 gün sonra devam eden yüksek amilaz düzeyi psödokist veya apse oluşumunu düşündürmelidir. Amilazın erken dönemde normale dönmesi, hastalığın düzelmekte olduğunu gösterebileceği gibi ağır pankreas hasarının belirtisi de olabilir (15).

Amilaz düzeyi ile hastalığın prognozu arasında bir ilişki yoktur. Alkole bağlı formlarda amilaz düzeyi normal olabileceği gibi hipertrigliseridemili hastalarda normal ya da düşük bulunabilir. Amilaz tayini ucuz ve pratik bir teknik olmasına rağmen pankreas dokusuna özgünlüğü zayıftır. Pankreas dışında tükrük bezi, over, meme, akciğer, karaciğer ve ince barsak gibi organlarda da amilaz bulunmaktadır. Akut pankreatit dışında hiperamilazemiye neden olan bir çok hastalık vardır;

- Kronik böbrek hastalığı
- Tükrük bezi hastalıkları (enfeksiyon, alkolizm, radyasyon, kanser)
- Kronik karaciğer hastalığı
- Sindirim sistemi hastalıkları (koledok taşı, akut kolesistit, peptik ulkus perforasyonu, intestinal obstruksiyon, akut apandisit, Crohn hastalığı, mezenter vasküler lezyon)
- Diyabetik ketoasidoz
- Akciğer hastalıkları (pnömoni, pulmoner emboli, kanser)
- Jinekolojik hastalıklar (ektopik gebelik, over tümörleri)
- Kafa travmaları
- Makroamilazemi
- Prostat kanseri

Akut pankreatitli hastalarda serum amilazından önce yükselen idrar amilazı, 10 güne kadar yüksek kalabildiğinden değerli bir bulgudur. Daha hassas ve spesifik belirleyiciler araştırıldığında idrar amilazı ve amilaz klirensinin serum klirensine oranı bu seçeneklerden birisi olarak gündeme gelmiştir. Hastaların periton ve plevra sıvılarında amilaz değeri seruma göre 4-5 kat yüksek olabilir (15).

**2.7.2.İnterlökin-6 (IL-6):** Kaynağı T ve B hücreleri, makrofajlar, endotelial hücreler, fibroblastlar ve hepatositlerdir. Akut travma ve stres dönemlerinde kan seviyesi yükselir. Bu nedenle genellikle sistemik inflamatuvar yanıt veya postoperatif morbidite indikatörü olarak kullanılır. Salınımında majör etkiyi IL-1 ve TNF- $\alpha$  sağlar. IL-4, IL-10 ve IL-13 tarafından baskılanır (46). Travmadan sonra 60 dakika içinde dolaşımdaki düzeyi ölçülebilir. 4-6 saatte dolaşımda en yüksek düzeyde bulunur ve dolaşımda kalma süresi 10 güne kadar uzayabilir. Kan düzeyi direkt dokudaki hasar şiddetinin belirleyicisi olarak kullanılabilir. IL-1 ve IL-6, travma sırasındaki akut faz protein yanıtının önemli mediatörleridir ve C-reaktif protein (CRP), fibrinojen, haptoglobulin,  $\alpha_1$ -antitripsin ve kompleman yapımını arttırır. PMNL aktivasyonunu indüklediği gibi, yaşlanmış veya disfonksiyonel PMNL'lerin fagositozunu da geciktirebilir. Travma sonrasında pulmoner veya renal sistem gibi uzak organ etkilerinin oluşumuna neden olmaktadır. Bunlara ilave olarak B lenfosit diferansiasyonu ve immünglobulin yapımında ve prostoglandin salınımında artışa neden olur. Normalde serumda IL-6 düzeyi yüksek olarak bulunmazken inflamatuvar olaylarda serum IL-6 düzeyi yükselir (46).

**2.7.3.Tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ):** 6. kromozom üzerinde majör histokompatibility complex (MHC) gen lokusunun içinde HLA class I ve II arasında yer aldığı gösterilmiştir.

Benzer biyolojik özelliklere sahip iki formu saptanmıştır; TNF- $\alpha$  (kaşektin) özellikle makrofajlardan, TNF- $\beta$  (lenfotoksin) ise özellikle lenfositlerden üretilmektedir (9).

TNF- $\alpha$  sentezinin kaynağı monositler, makrofajlar, T hücreleri, PMNL'ler, doğal öldürücü (NK) hücreler ve endotelial hücrelerdir. Doku travmasında veya enfeksiyonlar sonucu oluşan inflammatuar yanıtta proinflammatuar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- $\alpha$ , konakçı yanıtının oluşmasında en etkili mediatörlerden birisidir (58).

İnflammatuar sitokinlerin oluşumu ve akut faz proteinlerinin yapımı gibi yanıtların oluşumunda belirgin etkiye sahiptir. Akut travmaya yanıt olarak TNF- $\alpha$  salınımı hızlı ve kısa süreli olarak gerçekleşir. Endotoksin uyarısı ile akut inflammatuar yanıt gelişimini taklit eden deneylerde TNF'ün monofazik bir eğri izlediği, 90 dakikada pik yapıp 4 saat içinde ölçülemeyecek düzeye indiği saptanmıştır. Yarı ömrü 15-18 dakika olmasına rağmen, TNF'ün kısa süreli olarak ortamda bulunması bile önemli metabolik ve hemodinamik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur. İki farklı spesifik transmembran TNF reseptörü vardır; Tip I, apoptozis, sitotoksite ve endotelial hücrelerdeki adezyon moleküllerinin etkinliğini indükler. Tip II, T hücrelerinin, fibroblastların, NK hücrelerinin proliferasyonunu ve proinflammatuar sitokin salınımını indükler. TNF üretiminin kısa sürmesi, ortamda regüle edilemeyecek kadar çok TNF- $\alpha$  aktivitesinin oluşmasını engelleyen endojen modulatorlerin olduğuna işaret eder (45).

TNF- $\alpha$  ayrıca PMNL aktivasyonu, migrasyonu, degranülasyonu ve superoksit yapımında artma, makrofaj diferansiasyonunda artış, IL-6 indüksiyonu, akut faz reaktanlarının yapımında artış ve vasküler endotel permeabilitesinde artışa neden olabilmektedir (45).

**2.7.4. Myeloperoxidaz (MPO):** Fagositik hücrelerde bulunan lizozomal bir enzimdir. PMNL'lerin azurofil granüllerinde bol miktarda bulunur. Fagositoz sonrasında nötrofillerce bakterisidal olarak kullanılır. Bu etkiyi hidrojen peroksit ve klor iyonlarını bakteriyi öldüren hipoklorik asite çevirerek gösterir. İnflamatuar süreçte ekstrasellüler alana salınır. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun kantitatif bir göstergesi olarak kullanılır (52).

**2.7.5. Matrix Metallo-Proteinaz 9 (MMP-9):** Molekül ağırlığı 92 kDA'dır. Tip IV ve V kollajen, farklı tiplerde jelatin, fibronektin ve elastin içeren ekstrasellüler matrikste degrade edilen ve çinko içeren bir endopeptidazdır (70). Bağ doku hücreleri, endotelial hücreler, epitel hücreleri, hematopoetik hücreler ve makrofajlar gibi bir çok hücre tarafından sentez edilebilmektedir (25). Yapılan son çalışmalar göstermiştir ki; MMP-9 seviyesinin artması bazal membranın bozulmasına neden olmaktadır. Bunun sonucu olarakta vasküler permeabilitede artış gözlenmektedir (54). MMP-9 upregülasyonu nötrofil ve lökosit-endotelial hücre adezyonunun ilerlemesine neden olur. Bunun sonucunda ise nötrofilin inflame dokuya göçü nedeniyle inflame dokuda patolojik değişiklikler gözlenir (21). Ayrıca serum MMP seviyesindeki artış pankreatit şiddetinin belirlenmesinde önemli bir gösterge olarak kullanılabilir. MMP-9 nekrotizan pankreatit gelişiminde ve progresyonunda kilit noktada yer almaktadır (13).

## **2.8. Candesartan**

Renin-anjiotensin-aldosteron sistemi (RAAS) sistemik kan basıncı, vücut sıvı komponentleri ve elektrolit dengesinin düzenlenmesinde son derece önemli bir sistemdir. Bir oktapeptid olan ve RAAS'nin fizyolojik olarak aktif bir ürünü olan anjiotensin II (AT-II) anjiotensin converting enzim (ACE) aracılığı ile anjiotensin I (AT-I)'in yıkımı sonucu oluşur.



AT-II reseptörünün iki alt tipi bulunmaktadır; tip I ve tip II. Tip I böbrek, karaciğer, adrenal korteks ve kan damarlarında bulunur. Vazokonstriksiyon, hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin yapımında rol alır. Tip II reseptörü ise yetişkinde özellikle beyin, adrenal medulla, uterus ve kalpte bulunur. Bu form iskemi ve inflamasyon durumlarında artış göstererek DNA, protein ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin sentezinde baskılanmaya neden olur. ACE inhibitörleri AT-II reseptörü aracılığı ile hem tip I hemde tip II reseptörlerin fonksiyonlarını baskırlar (78).

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki; şiddetli akut pankreatit sürecinde anjiotensinojen, renin ve ACE pankreasta aktif olarak bulunurlar. RAAS'nin aktivasyonu ile oluşan AT-II vazokonstriksiyona neden olur. Bunun sonucunda ise özellikle akut pankreatitin erken döneminde pankreatik dokuda hipoksi gelişir (78).

ACE inhibitörleri vasodilatatör etkili prostoglandin ve nitrik oksit düzeylerinin artmasına neden olurlar. Sınırlı sayıdaki çalışmalarda bir AT-II reseptör antagonisti olan candesartanın kullanılması sonucunda; pankreas endotel hücrelerinin etkilenmesi ile kapiller permeabilitede azalma ve kronik dönemde pankreatik dokuda fibrozis gelişiminde gerilemenin olduğu gözlenmiştir. Candesartanın fibrozis ve kronik pankreatit üzerindeki etkisi bu çalışmalarda tanımlanmaya çalışıldıysada pankreatik mikrodolaşım ve vasküler endotelial hücreler üzerindeki etkisi net olarak ortaya konulamamıştır (78).

### 3 GEREÇ VE YÖNTEM

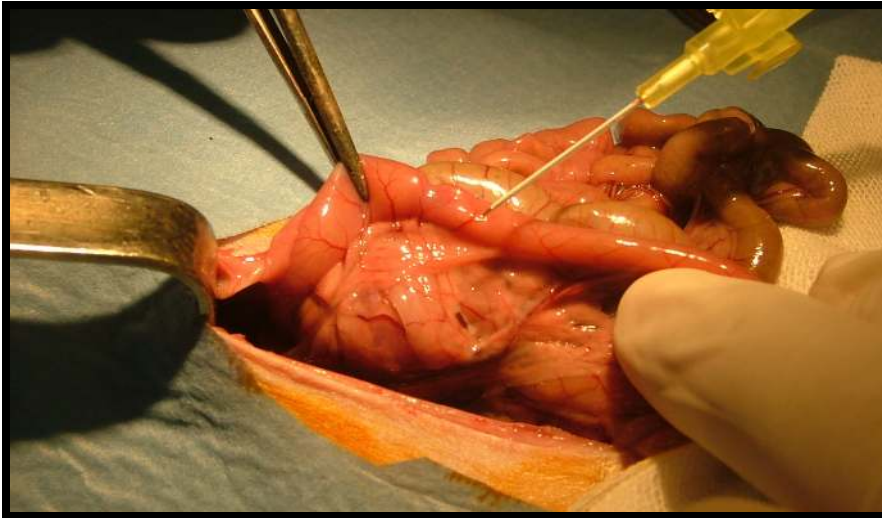
Bu deneysel çalışma, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi'nce 01/2007-24 sayı ile desteklenmiş olup, Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu Başkanlığı' nın 06.055 sayı ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi Müdürlüğü'nün izinleri alınarak, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada, ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen, ortalama yaşları 4 ay olan toplam 50 adet dişi Wistar-albino türü rat kullanıldı. Ratlar 5 gruba ayrıldı ve her grup 10 rattan oluşmaktaydı. Deney süresince ışık düzeni 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ayarlandı. Ratlar beşerli gruplar şeklinde kafeslere yerleştirildi. Oda sıcaklığı yaklaşık 21 °C'de tutuldu. İnternal juguler ven katererizasyonu yapılan ratların birbirlerinin kateteterlerine zarar vermemeleri için kateter ucu supraskapuler bölgeye konuldu ve sırtlarına giydirilen flasterden yapılmış örtülerle kateter ucu gizlendi. Ratlar araştırma süresince standart pelet yem ile beslendiler ve su ihtiyaçları musluk suyu ile karşılandı. Ratlar çalışmadan önce 12 saat aç bırakıldılar ancak su alımlarına izin verildi. Cerrahi anestezi, intramusküler Ketamin Hydrochloride (Ketalar, Parke Davis ve Eczacıbaşı, İstanbul) 50 mg/kg dozuna ilave olarak Xylazine hydrochloride (Rompun, Bayer HealthCare) 5 mg/kg dozunda enjekte edilerek sağlandı.

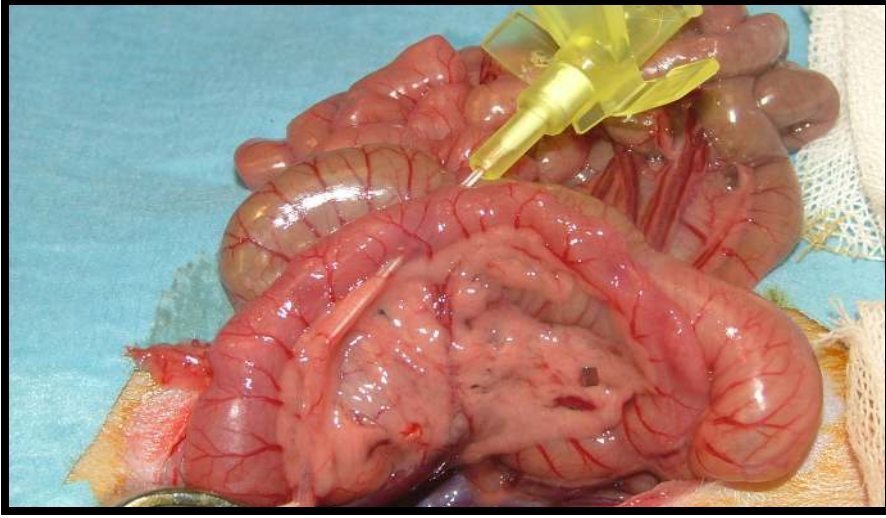
**3.1. Cerrahi prosedür:** Anestezi sonrası gerekli steril şartlar sağlandıktan sonra silikonla kaplanmış olan iç çapı 0.51 mm, dış çapı 0.94 mm ve uzunluğu 10.5 cm olan kateter daha önce Thrivikraman ve ark. tarafından tarif edilen yöntemle göre sağ internal juguler vene yerleştirildi. Kateter cilt altından tünel açılarak sağ skapula üst kısmına kadar uzatıldı ve kateterin uç kısmı cilde tespit edildi (31, 67).

Akut nekrotizan pankreatit Alhan ve ark. tarafından tarif edilen yöntemle göre; 5µg/kg/saat dozunda cerulein'in standart olarak internal juguler vene konulan kateterden intravenöz infüzyonunu takiben, laparotomi sonrası biliopankreatik kanalın transduodenal yöntemle kanüle edilerek 1.2 ml/kg glycodeoxycholic asitin 10 mM olarak 10 dakikada 30 mmHg basınçta volüm ve basınç ayarlı infüzyon cihazı yardımı ile infüzyonla verilmesi sonucu oluşturuldu (1).

**Resim V:** Biliopankreatik kanalın kanüle edilmesi.



**Resim VI:** Glycodeoxycholic asitin infüzyonla verilmesi.

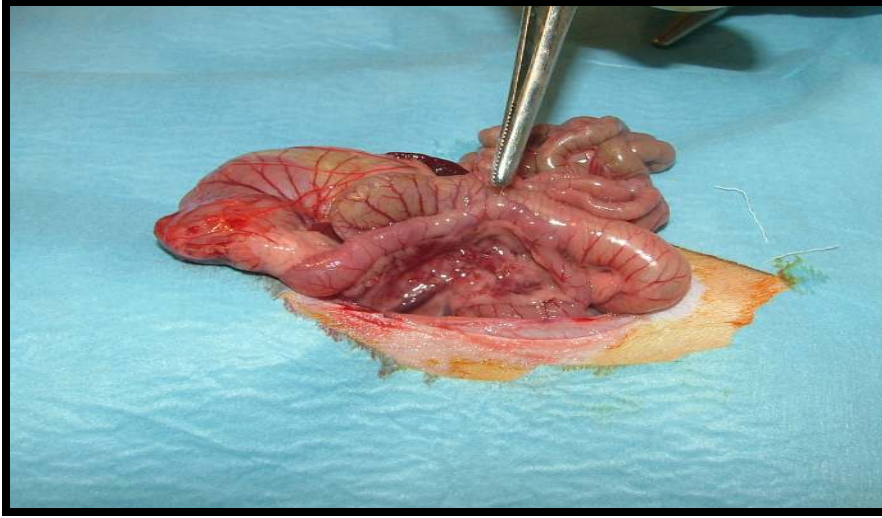


İşlem sonrası laparotomi yapılan tüm ratlara periton içine karın kapatılmadan önce 3 ml ılık serum fizyolojik verildikten sonra karın uygun yöntemlerle kapatıldı.

Pankreatit oluşturulan ratlara 6. ve 18. saatlerde candesartan; Yamada ve ark.'nın daha önce tarif ettikleri doza uygun olarak 10 mg/kg dozunda gavaj yöntemiyle direkt olarak mideye verildi (78).

Altıncı saatte candesartan verilen ratlara 24. saatte, 18. saatte candesartan verilen ratlara ise 48. saatte relaparotomi yapıldı.

**Resim VII:** 6. saatte candesartan verilen ve 24. saatte relaparotomi yapılan grupta oluşan pankreatitin makroskopik görünümü.



### **Gruplar**

**Grup I:** Tedavi edilmeyen, venöz kateterizasyon yapılmayan ancak laparotomi yapılan ve bazı değerlerin alındığı grup (sham).

**Grup II:** Laparotomi yapıldıktan sonra cerulein'in standart olarak internal juguler vene konulan kateterden infüzyonunu takiben laparotomi sonrası biliopankreatik kanaldan glycodeoxycholic asitin verilmesi ile pankreatit oluşturulan ve 6. saatte candesartan miktarında izotonik sodyum klorürün gavaj yöntemiyle direkt olarak mideye verildiği grup. 24. saatte relaparotomi yapıldı (24. saat kontrol grubu).

**Grup III:** Laparotomi yapıldıktan sonra cerulein'in standart olarak internal juguler vene konulan kateterden infüzyonunu takiben laparotomi sonrası biliopankreatik kanaldan glycodeoxycholic asitin verilmesi ile pankreatit oluşturulan ve 18. saatte candesartan

miktarında izotonik sodyum klorürün gavaj yöntemiyle direkt olarak mideye verildiği grup. 48. saatte relaparotomi yapıldı (48. saat kontrol grubu).

**Grup IV:** Laparotomi yapıldıktan sonra cerulein'in standart olarak internal juguler vene konulan kateterden infüzyonunu takiben laparotomi sonrası biliopankreatik kanaldan glycodeoxycholic asitin verilmesi ile pankreatit oluşturulan ve 6. saatte candesartanın gavaj yöntemiyle direkt olarak mideye verildiği grup. 24. saatte relaparotomi yapıldı (24. saat çalışma grubu).

**Grup V:** Laparotomi yapıldıktan sonra cerulein'in standart olarak internal juguler vene konulan kateterden infüzyonunu takiben laparotomi sonrası biliopankreatik kanaldan glycodeoxycholic asitin verilmesi ile pankreatit oluşturulan ve 18. saatte candesartanın gavaj yöntemiyle direkt olarak mideye verildiği grup. 48. saatte relaparotomi yapıldı (48. saat çalışma grubu).

**3.2. Pankreas dokusunda mikrosirkülasyon düzeyinin ölçümü:** Relaparotomi sırasında eksplorasyonu takiben pankreas dokusundaki kan akımı daha önce Dobosz ve ark. tarafından tarif edilen yöntemle, laser doppler-flowmeter (Perimed, prob 407) kullanılarak pankreasın duodenal lobunun proksimalinden, koledoğun duodenuma giriş yaptığı distal kısmı ile splenik lobun medialinden olmak üzere üç ayrı bölgeden ölçüldü. Bulunan bu üç değerın ortalaması alınarak pankreatik dokudaki mikrosirkülasyon düzeyi hesaplandı ve değerler % olarak ifade edildi (19).

Organın mikrosirkülasyon düzeyinin ölçümleri sonrasında biyokimyasal parametreler (amilaz, myeloperoksidaz (MPO), IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) için vena cavadan 4-5 ml kan alınarak tüplere konuldu. Pankreas dokusunun tamamı histopatolojik analiz için çıkarıldı.

Deney sonunda vena kavadan alınan kan nedeniyle gelişen vasküler kollaps sonucunda ratların sakrifikasyonu gerçekleştirildi.

**3.3. Biyokimyasal analiz:** Biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi ve serum numuneleri hazırlandı. Eppendorf tüplere alınan serum örnekleri analiz dönemine kadar -80 °C’de saklandı.

**3.3.1. Serum pankreatik amilaz düzeyi ölçümü:** Amilaz düzeyleri enzimatik kolorimetrik prensibini esas alan hazır kitler kullanılarak Roche-Integra otoanalizöründe analiz edildi. Değerler mU/L olarak ifade edildi (44).

**3.3.2. Serum myeloperoksidaz (MPO) düzeyi ölçümü:** Serum MPO düzeyleri ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntemi ile hazır kit (Hycult biotechnology b.v., The Netherlands) kullanılarak ölçüldü. Değerler ng/ml olarak ifade edildi.

**3.3.3. Serum IL-6 düzeyi ölçümü:** Serum IL-6 düzeyleri ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntemi ile hazır kit (BioSource International, Inc. California, USA) kullanılarak ölçüldü. Değerler pg/mL olarak ifade edildi.

**3.3.4. Serum TNF- $\alpha$  düzeyi ölçümü:** Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntemi ile hazır kit (BioSource International, Inc. California, USA) kullanılarak ölçüldü. Değerler pg/mL olarak ifade edildi.

**3.4. Histopatolojik analiz:** Alınan pankreatik dokular %10’luk formaldehit içerisinde tespit edilip rutin takip işlemi sonucunda parafin bloklara gömüldü. Histopatolojik olarak hematoksilin-eozin (H&E) boyası ile pankreatit sınıflamasının yanında TUNEL yöntemi ile

endotelial apoptozis ve MMP-9 monoklonal antikoru ile matrix-metalloproteinaz aktivitesi değerlendirildi.

**3.4.1. Pankreatit şiddetinin değerlendirilmesi:** Bloklardan hazırlanan 5 mikron kalınlığındaki kesitler H&E ile boyanarak ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Değerlendirme Schmidt tarafından belirlenen kriterler kullanılarak yapıldı (20) (Tablo III) .

**Tablo III.** Pankreatit şiddetinin belirlenmesinde kullanılan Schmidt kriterleri.

|                            | 0   | 1            | 2                  | 3              |
|----------------------------|-----|--------------|--------------------|----------------|
| Ödem                       | Yok | İnterlobüler | İntralobüler       | Asiniler arası |
| Asiner hücre dejenerasyonu | Yok | Fokal (<%5)  | Sublobüler (%5-20) | Lobüler (>%20) |
| İnflamasyon                | Yok | Hafif        | Orta               | Şiddetli       |
| Hemoraji                   | Yok | Hafif        | Orta               | Şiddetli       |

**3.4.2. Pankreatik dokuda endotelial hücre apoptozisinin değerlendirilmesi:** Doku örnekleri terminal deoxynucleotidyl transfer-mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) metodu kullanılarak boyandı. TUNEL yöntemi için I.S. Cell Death Detection Kit (Chemicon, Germany) kullanıldı. 5 µm kalınlığında parafin emdirilmiş kesitler 56 °C'de bir gece inkübe edildi. Deparafinizasyon ve %3 hidrojenperoksit ile endojen peroksitaz inaktivasyonunu takiben 20 µg/ml proteinaz K (Sigma-Aldrich, Germany) ile 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra insitu apoptozis ölçümü için Apoptag peroksitaz kullanılarak üretici firmanın klavuzuna göre TUNEL değerlendirmesi yapıldı. Bu yöntemde prepatlar



önce en az 15 saniye süreyle “equilibrating” buffer 75 µl içinde tutulduktan sonra TdT enzimi ile 37 °C de 1 saat süreyle inkübe edildi. Stop/wash buffer ile 15 saniye yıkandıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika tutuldu. Daha sonra antidigoksinin peroksidaz ile oda sıcaklığında 30 dakika süreyle inkübe edildi. Son olarak peroksidaz boyaması için diaminobenzidine (DAB) ile inkübe edilen kesitlere karşıt boyama için %1 methyl green 10 dakika uygulandı. Pozitif kontrol grubu olarak germinal merkezinde makrofaj bulunan tonsil kullanıldı. Her bir kesit ışık mikroskopunda X400 büyütmede değerlendirildi. TUNEL pozitif hücreler sayıldı ve apoptotik aktivite hücre sayısı/mm<sup>2</sup> olarak belirlendi (41).

**3.4.3. Pankreatik dokuda MMP-9 düzeyinin değerlendirilmesi:** İmmünohistokimyasal olarak indirekt immünperoksidaz yöntemi ile rat MMP-9 monoklonal primer antikoru (MMP-9 antibody) [56-2A4] (ab58803) kullanılarak MMP-9 ile pankreatik vasküler dokunun boyanma dereceleri belirlendi. Parafin bloklardan hazırlanan kesitler deparafinize edildi. Polilizinli lamlara alınan kesitler phosphate-buffered saline (PBS) ile rehidrate edildi. Endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük hidrojenperoksidaz/PBS ile 10 dakika inkübe edildi. Kesitler keçiden alınan serum bloke edici solüsyonla 37 °C'de 1 saat tespit edildikten sonra MMP-9 monoklonal antikoru ile 4 °C'de 1 gece inkübe edildi. Kesitler oda sıcaklığında keçiden elde edilen biotine ile konjuge edilmiş fare antijenlerine karşı geliştirilmiş serumda 2 saat inkübe edildi ve daha sonra avidine-biotine-peroxidase (ABC) ile 30 dakika muamele edildi. Renk değiştirme reaksiyonu DAB ve hematoksilin nükleus karşıt boyama yöntemi ile yapıldı. Rastgele olarak seçilen 5 büyük büyütme alanı yapılan sayımlarla boyama değerlendirmeleri yapıldı. Kahverengi boyanan hücreler MMP-9 pozitif hücreler olarak değerlendirildi. Değerlendirmede Chen ve ark. kullandıkları sistem kullanıldı (13) (Tablo IV).

**Tablo IV.** Pankreatik doku MMP düzeyinin belirlenmesinde kullanılan kriterler.

|                           | 0   | +          | ++         | +++           |
|---------------------------|-----|------------|------------|---------------|
| Hücrenin boyanma derecesi | Yok | Bir alanda | 2-4 alanda | Tüm alanlarda |

Tüm histopatolojik analizler çalışmayı bilmeyen deneyimli bir patolog tarafından gerçekleştirildi.

**3.5. İstatistiksel Analiz:** Verilerin girilmesinde SPSS® 11.5 (Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanıldı. Pankreatik doku mikrosirkülasyon düzeyleri, serum amilaz, MPO, IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyeleri, pankreatit şiddeti-pankreatik doku endotelial hücre apoptozis derecesi ve pankreatik doku MMP-9 düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Mann-Whitney U Testi ve Kruskal-Wallis Testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4 BULGULAR

Çalışmada 48. saat kontrol grubunda 3 rat, 48. saat çalışma grubunda 1 rat ve 24. saat kontrol grubunda 1 rat olmak üzere toplam 5 rat kaybedildi. Ölen ratların yerine yenileri konuldu. Böylece çalışmada genel mortalite oranı %10 olarak bulunurken ANP'le ilişkili erken dönem mortalite oranı %12.5 olarak belirlendi.

**4.1. Pankreas dokusunun mikrosirkülasyon düzeyi:** Ölçümler sonucunda bulunan ortalama değerler sham grubundaki ratlar için baz olarak alınan %100 değerine göre hesaplandı. Buna göre pankreatik doku mikrosirkülasyon düzeyleri; 24. saat ve 48. saat kontrol grubu, 24. saat ve 48. saat çalışma gruplarında sırasıyla  $43.4 \pm 4$ ,  $34.4 \pm 3$ ,  $96 \pm 7$  ve  $94 \pm 6$  olarak bulundu. 24. ve 48. saat kontrol ve çalışma grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde candesartan verilen gruplarda pankreatik doku mikrosirkülasyon düzeyinde iyileşmeler olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ) (Tablo V, Şekil I).

### 4.2. Biyokimyasal analiz

**4.2.1. Amilaz:** Serum pankreatik amilaz düzeyleri sham, 24. saat ve 48. saat kontrol grubu, 24. saat ve 48. saat çalışma gruplarında sırasıyla  $851.1 \pm 243.5$  mU/L,  $1660.2 \pm 676.1$  mU/L,  $942.1 \pm 1018.5$  mU/L,  $1623 \pm 1057.7$  mU/L ve  $1000 \pm 1069$  mU/L olarak bulundu. Serum pankreatik amilaz değerleri sham grubu ile karşılaştırıldığında 24. saat kontrol ve çalışma gruplarında, 48. saat kontrol ve çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek idi ( $p < 0.05$ ). Bu sonuçlar erken dönemde serum amilazının yüksek olması ve daha sonra serumda düşme eğiliminde olması şeklinde yorumlandı (Tablo V, Şekil II).

**4.2.2. Myeloperoksidaz (MPO):** Myeloperoksidaz düzeyleri sham, 24. saat ve 48. saat kontrol grubu, 24. saat ve 48. saat çalışma gruplarında sırasıyla  $114.2 \pm 23$  ng/mL,  $267.8 \pm 37.1$  ng/mL,  $306.7 \pm 34.4$  ng/mL,  $165.1 \pm 58.8$  ng/mL ve  $182.8 \pm 87.9$  ng/mL olarak bulundu. Myeloperoksidaz düzeyleri 48. saat kontrol grubunda daha belirgin olmak üzere her iki kontrol grubu ve çalışma gruplarında, sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek idi ( $p < 0.05$ ). Candesartan verilen çalışma gruplarında ise myeloperoksidaz düzeylerinin 24. ve 48. saat kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu tespit edildi ( $p < 0.05$ ) (Tablo V, Şekil III).

**4.2.3. IL-6:** IL-6 düzeyleri sham, 24. saat ve 48. saat kontrol grubu, 24. saat ve 48. saat çalışma gruplarında sırasıyla  $41.5 \pm 31.8$  pg/mL,  $250.1 \pm 242.1$  pg/mL,  $573 \pm 1182.1$  pg/mL,  $96.1 \pm 84.7$  pg/mL ve  $131.3 \pm 94.4$  pg/mL olarak bulundu. IL-6 düzeyleri 48. saat kontrol grubunda daha belirgin olmak üzere her iki kontrol grubunda ve 48. saat çalışma grubunda sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek idi ( $p < 0.05$ ). Candesartan verilen çalışma gruplarında ise IL-6 düzeylerinin 24. ve 48. saat kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu tespit edildi ( $p < 0.05$ ) (Tablo V, Şekil IV).

**4.2.4. TNF- $\alpha$ :** TNF- $\alpha$  düzeyleri sham, 24. saat ve 48. saat kontrol grubu, 24. saat ve 48. saat çalışma gruplarında sırasıyla  $13.1 \pm 7.1$  pg/mL,  $40.2 \pm 27.5$  pg/mL,  $123.8 \pm 170.6$  pg/mL,  $23.3 \pm 10$  pg/mL ve  $58.1 \pm 62.9$  pg/mL olarak bulundu. TNF- $\alpha$  düzeyleri 48. saat kontrol grubunda daha belirgin olmak üzere her iki kontrol grubunda ve 48. saat çalışma grubunda sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek idi ( $p < 0.05$ ). Candesartan verilen çalışma gruplarında ise TNF- $\alpha$  düzeylerinin 24. ve 48. saat kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu tespit edildi ( $p < 0.05$ ) (Tablo V, Şekil

V).

**Tablo V.** Pankreatik dokudaki mikrosirkülasyon düzeyleri ve biyokimyasal analiz sonuçları ( $\pm$  Standart Deviasyon).

|                                            | <b>Sham<br/>(n=10)</b> | <b>24 K<br/>(n=10)</b> | <b>48 K<br/>(n=10)</b> | <b>24 Ç<br/>(n=10)</b> | <b>48 Ç<br/>(n=10)</b> |
|--------------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| <b>MD<br/>(%)</b>                          | 100 $\pm$ 9            | 43.4 $\pm$ 4*          | 34.4 $\pm$ 3*          | 96 $\pm$ 7*#           | 94 $\pm$ 6*#           |
| <b>Amilaz<br/>(mU/L)</b>                   | 851.1 $\pm$ 243.5      | 1660.2 $\pm$ 676.1*    | 942.1 $\pm$ 1018.5     | 1623.0 $\pm$ 1057.7*   | 1000 $\pm$ 1069        |
| <b>MPO<br/>(ng/mL)</b>                     | 114.2 $\pm$ 23.0       | 267.8 $\pm$ 37.1*      | 306.7 $\pm$ 34.4*      | 165.1 $\pm$ 58.8*#     | 182.8 $\pm$ 87.9*#     |
| <b>IL-6<br/>(pg/mL)</b>                    | 41.5 $\pm$ 31.8        | 250.1 $\pm$ 242.1*     | 573.0 $\pm$ 1182.1*    | 96.1 $\pm$ 84.7#       | 131.3 $\pm$ 94.4*#     |
| <b>TNF-<math>\alpha</math><br/>(pg/mL)</b> | 13.1 $\pm$ 7.1         | 40.2 $\pm$ 27.5*       | 123.8 $\pm$ 170.6*     | 23.3 $\pm$ 10.0#       | 58.1 $\pm$ 62.9*#      |

24 K: 24. saat kontrol grubu

24 Ç: 24. saat çalışma grubu

48 K: 48. saat kontrol grubu

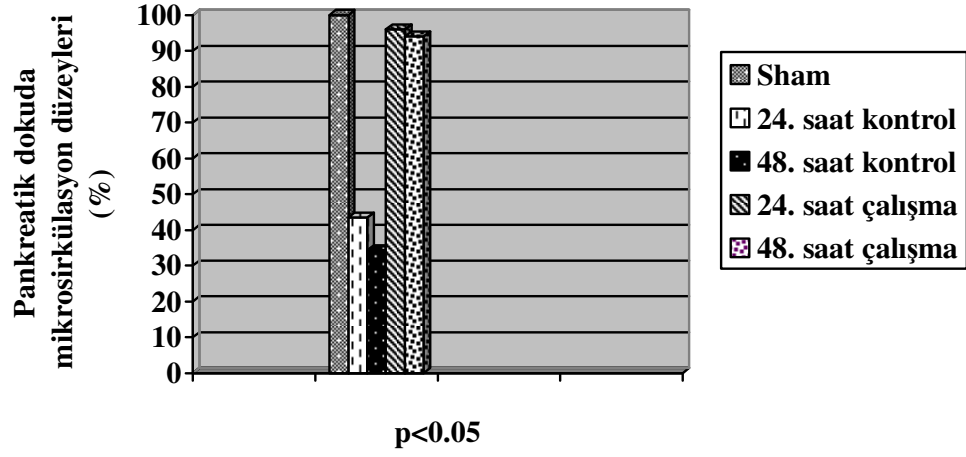
48 Ç: 48. saat çalışma grubu

MD: Mikrosirkülasyon düzeyleri

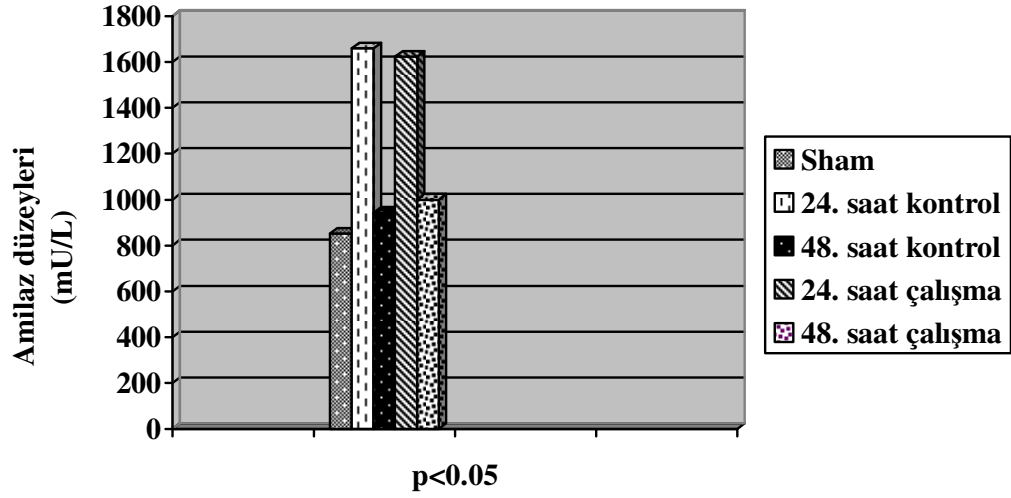
\*P<0.05; kontrol ve çalışma gruplarının-sham grubu ile karşılaştırılması

#P<0.05; 24. saat çalışma ve 48. saat çalışma gruplarının-24. saat kontrol, 48. saat kontrol grupları ile karşılaştırılması

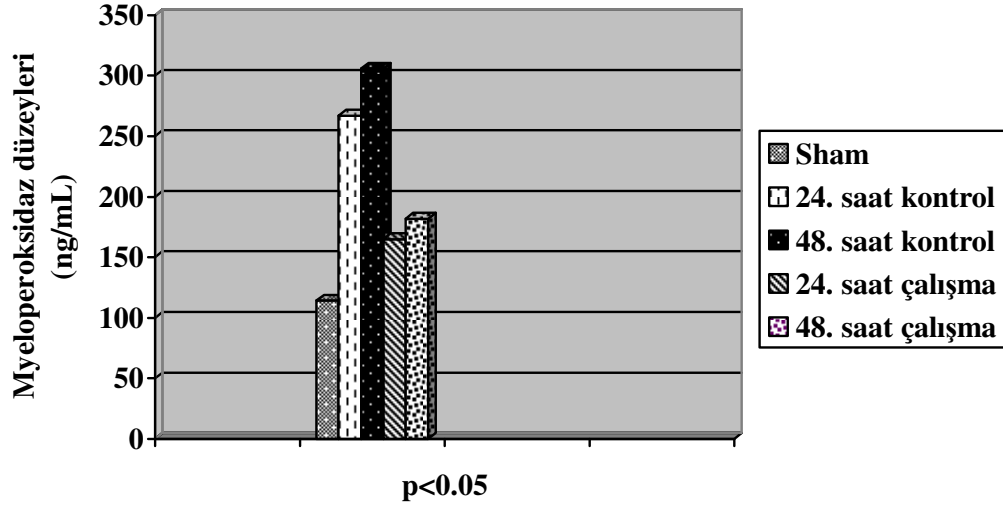
**Şekil I.** Pankreatik dokudaki mikrosirkülasyon düzeyleri.



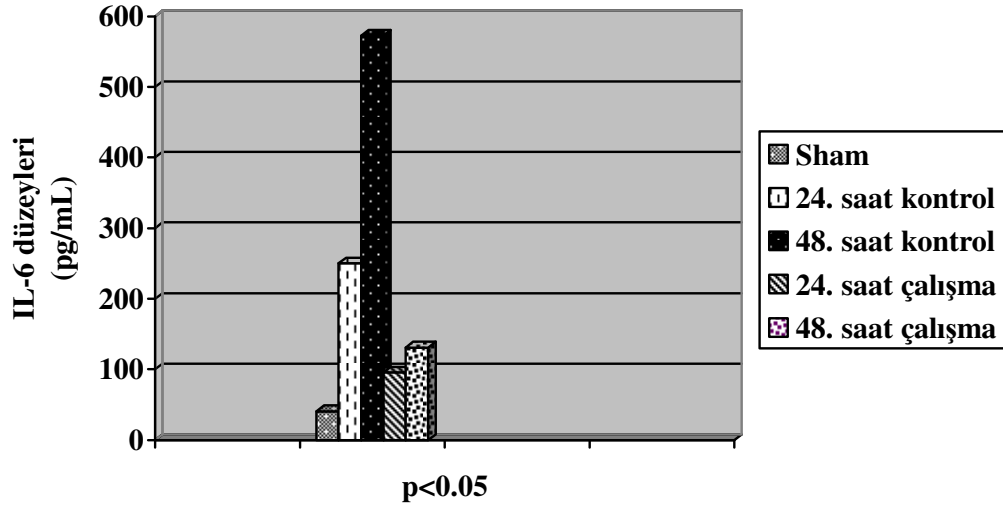
**Şekil II.** Serum pankreatik amilaz düzeyleri.



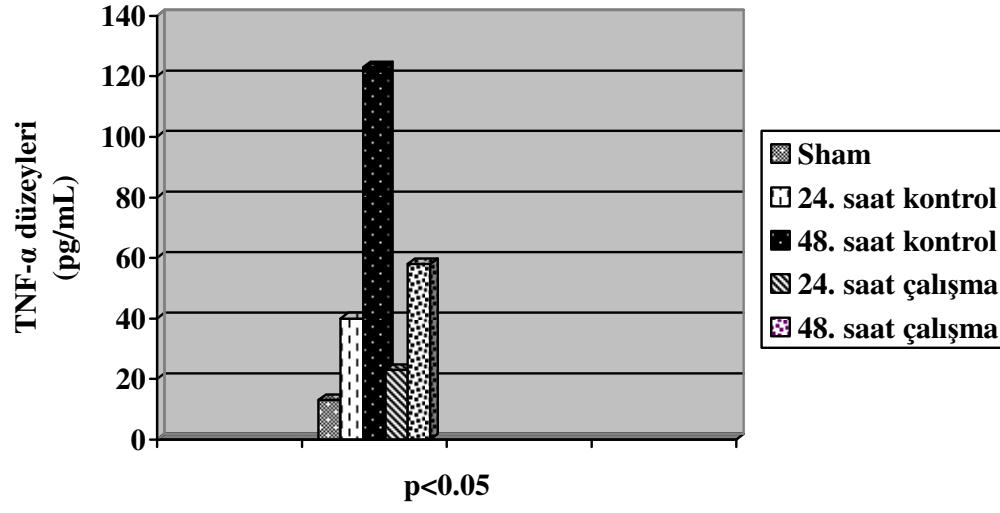
Şekil III. Serum myeloperoksidaz düzeyleri.



Şekil IV. Serum IL-6 düzeyleri.



**Şekil V.** Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri.





### 4.3. Histopatolojik analiz

**4.3.1. Pankreatit şiddeti:** Pankreatik dokunun histopatolojik analizinde pankreatik ödem 48. saat kontrol grubunda daha belirgin olmak üzere her iki kontrol grubunda da hem sham grubuna göre hem de candesartan verilen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla idi ( $p<0.05$ ) (Tablo VI, Şekil VI). Asiner hücre dejenerasyonu ve nekroz 48. saat kontrol grubunda daha belirgin olmak üzere her iki kontrol grubunda candesartan verilen çalışma gruplarına göre daha belirgin olmalarına rağmen gruplar arasında istatistiksel anlam ifade eden herhangi bir farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Tablo VI, Şekil VI). Pankreatik dokudaki inflamasyon ise 48. saat kontrol grubunda daha belirgin olmak üzere her iki kontrol grubunda da hem sham grubuna, hem de candesartan verilen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olarak bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo VI, Şekil VI) (Resim VIIa, VIIb, VIIc, VIId ve VIIe).

**Tablo VI.** Pankreatit şiddetini gösteren histopatolojik analiz sonuçları ( $\pm$  Standart deviasyon).

|                           |                                       | <b>Sham<br/>(n=10)</b> | <b>24 K<br/>(n=10)</b> | <b>48 K<br/>(n=10)</b> | <b>24 Ç<br/>(n=10)</b> | <b>48 Ç<br/>(n=10)</b> |
|---------------------------|---------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| <b>Pankreatit şiddeti</b> |                                       |                        |                        |                        |                        |                        |
|                           | <b>Ödem</b>                           | 0.75 $\pm$ 0.75        | 1.87 $\pm$ 1.18*       | 2.06 $\pm$ 0.86*       | 0.87 $\pm$ 0.44*#      | 1.37 $\pm$ 0.69*#      |
|                           | <b>Asiner hücre<br/>dejenerasyonu</b> | 0                      | 0.60 $\pm$ 0.88        | 1.12 $\pm$ 1.32        | 0.40 $\pm$ 0.70        | 0.50 $\pm$ 0.92        |
|                           | <b>Nekroz</b>                         | 0                      | 0.81 $\pm$ 1.19        | 0.93 $\pm$ 1.14        | 0.31 $\pm$ 0.70        | 0.81 $\pm$ 1.03        |
|                           | <b>İnflamasyon</b>                    | 0.06 $\pm$ 0.17        | 0.87 $\pm$ 0.58*       | 2.25 $\pm$ 1.51*       | 0.62 $\pm$ 1.27*#      | 0.93 $\pm$ 0.97*#      |

24 K: 24. saat kontrol grubu

24 Ç: 24. saat çalışma grubu

48 K: 48. saat kontrol grubu

48 Ç: 48. saat çalışma grubu

\* $P<0.05$ ; kontrol ve çalışma gruplarının-sham grubu ile karşılaştırılması

# $P<0.05$ ; 24. saat çalışma ve 48. saat çalışma gruplarının-24. saat kontrol, 48. saat kontrol grupları ile karşılaştırılması

**4.3.2. Endotelial hücre apoptotik aktivite düzeyi:** Pankreatik dokudaki endotelial hücre apoptotik aktivitesi değerlendirildiğinde; 48. saat kontrol grubundaki apoptotik aktivitenin sham, 24. saat kontrol ve her iki çalışma grubuna göre daha yüksek olduğu, fakat bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ( $p>0.05$ ). Candesartan verilen çalışma gruplarındaki apoptotik aktivite istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen kontrol gruplarına göre daha düşük olarak bulundu ( $p>0.05$ ) (Tablo VII, Şekil VII) (Resim IXa, IXb).

**4.3.3. Pankreatik doku MMP-9 düzeyleri:** Pankreatik dokuda 48. saat kontrol grubunda (++) ve (+++) boyanma diğer gruplara göre daha fazla gözlendi ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Candesartan tedavisi ile özellikle 48. saat çalışma grubunda bu boyanmanın azaldığı gözlendi ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ) (Tablo VII, Şekil XV) (Resim Xa, Xb, Xc ve Xd).

**Tablo VII.** Pankreatik doku endotelial hücre apoptotik aktivite ve pankreatik doku MMP-9 sonuçları ( $\pm$  Standart deviasyon).

|                             | Sham<br>(n=10) | 24 K<br>(n=10) | 48 K<br>(n=10) | 24 Ç<br>(n=10) | 48 Ç<br>(n=10) |
|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| AA (hücre/mm <sup>2</sup> ) | 1 $\pm$ 0.2    | 2 $\pm$ 0.75   | 3 $\pm$ 1.25   | 2 $\pm$ 0.25   | 1 $\pm$ 0.50   |
| MMP-9                       |                |                |                |                |                |
| -                           | 8              | 8              | 1 $\alpha$     | 9              | 7              |
| +                           | 2              | 1              | 2 $\alpha$     | 1              | 2              |
| ++                          | -              | 1              | 3 $\alpha$     | -              | 1              |
| +++                         | -              | -              | 4 $\alpha$     | -              | -              |

24 K: 24. saat kontrol grubu

24 Ç: 24. saat çalışma grubu

48 K: 48. saat kontrol grubu

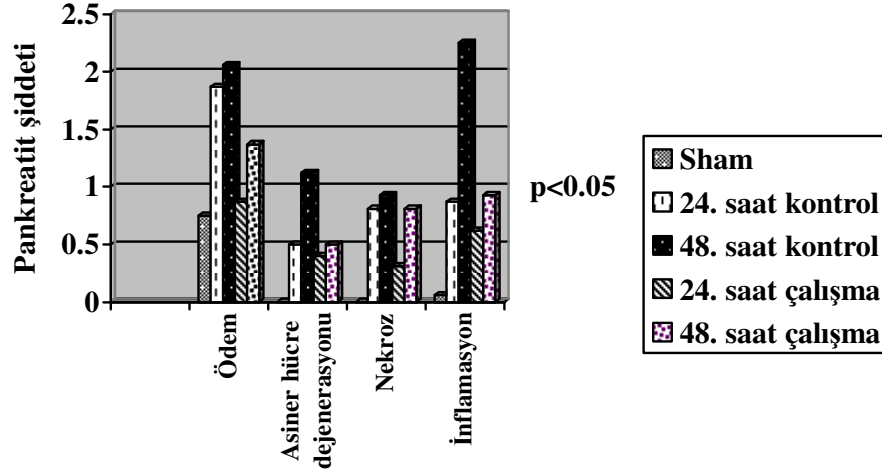
48 Ç: 48. saat çalışma grubu

AA: Apoptotik aktivite

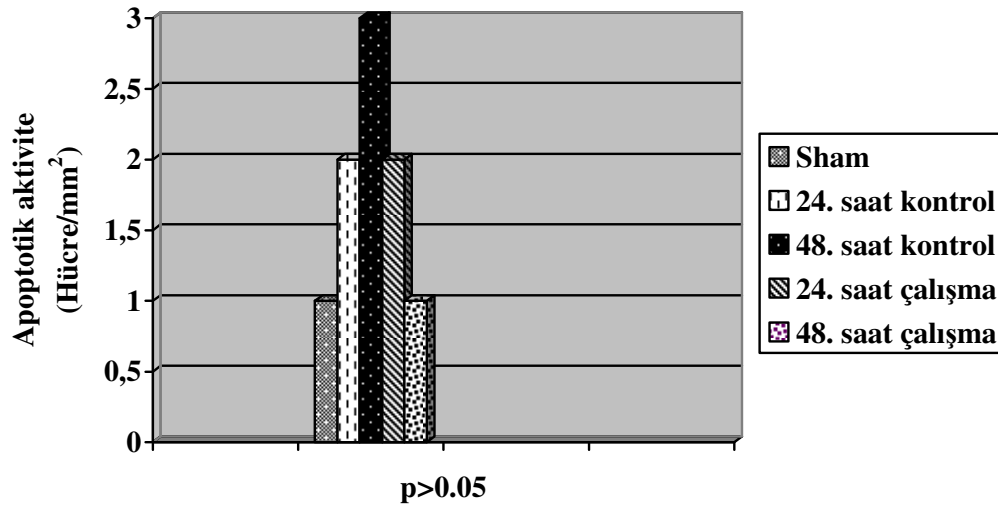
MMP-9: Matriks metalloproteinaz-9

$\alpha$  P<0.05; 48. saat kontrol grubunun sham, 24. saat kontrol, 24. saat çalışma ve 48. saat çalışma grupları ile karşılaştırılması

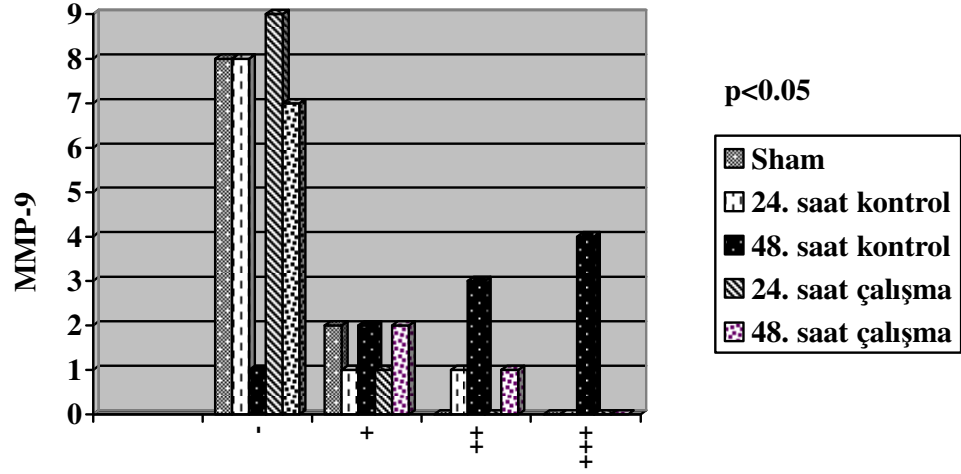
**Şekil VI.** Pankreatit şiddetini gösteren histopatolojik analiz sonuçları.



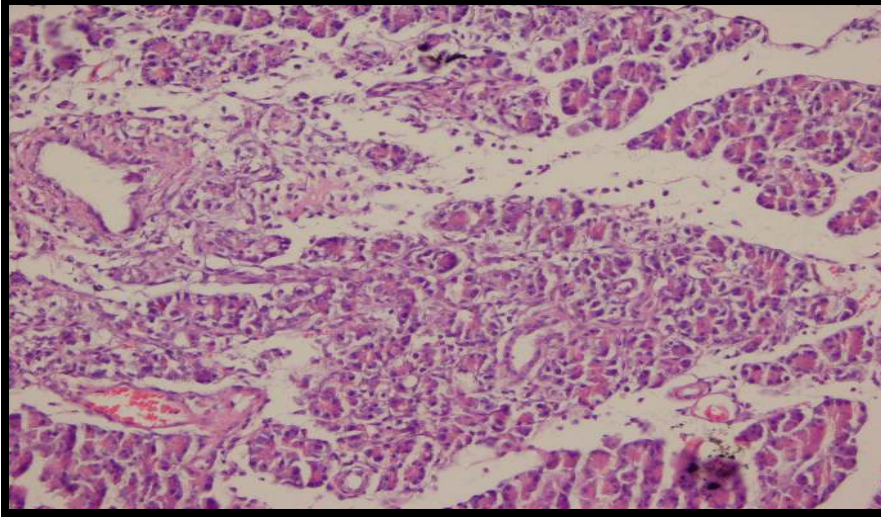
**Şekil VII.** Apoptotik aktivite düzeylerini gösteren histopatolojik analiz sonuçları.



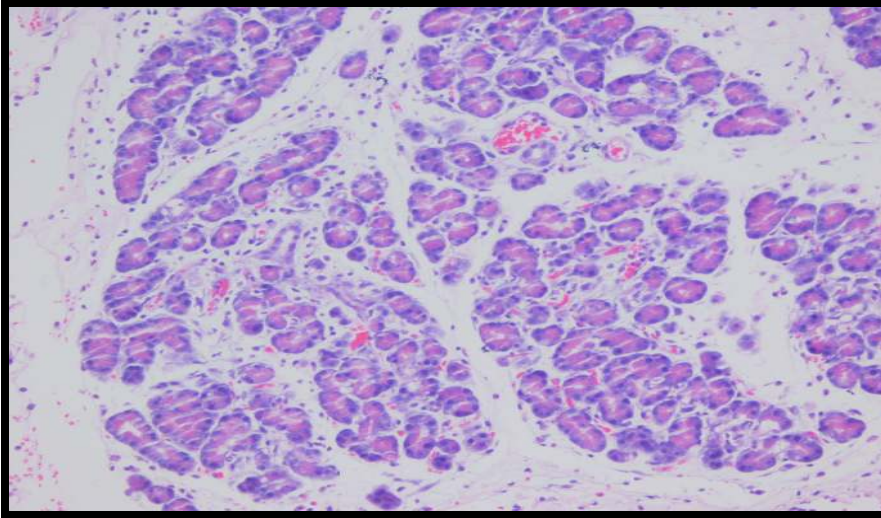
**Şekil VIII.** MMP-9 düzeylerini gösteren histopatolojik analiz sonuçları.



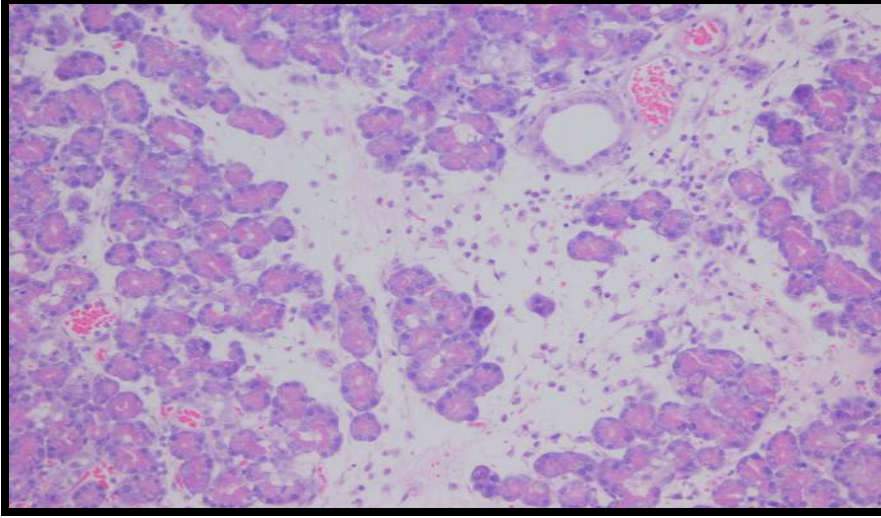
**Resim VIIIa.** Normal pankreatik doku mikroskopisi (H&E X100)



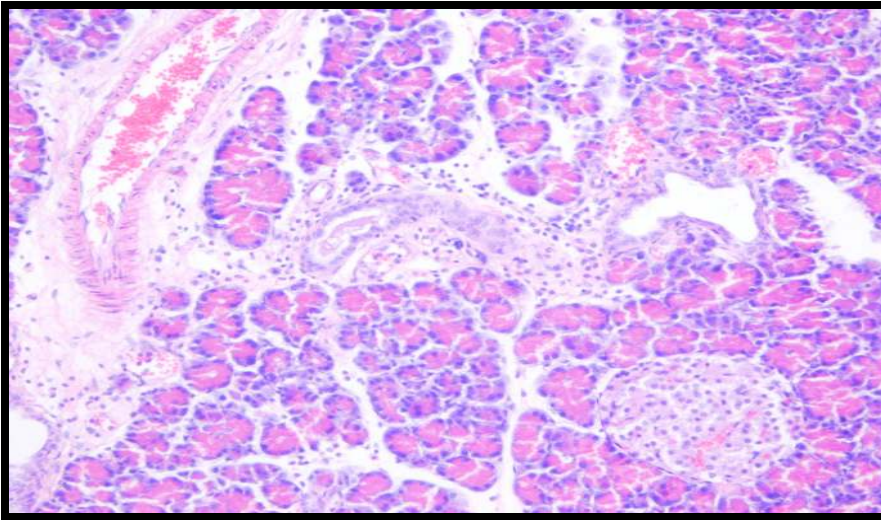
**Resim VIIIb.** 24. saat kontrol grubuna ait pankreatik doku mikroskopisi; belirgin pankreatik doku ödemi, asiner hücre dejenerasyonu, nekroz ve inflamasyona ait görünüm (H&E X200)



**Resim VIIIc.** 48. saat kontrol grubuna ait pankreatik doku mikroskopisi; şiddetli pankreatik doku ödemi, asiner hücre dejenerasyonu, nekroz ve inflamasyona ait görünüm (H&E X200)

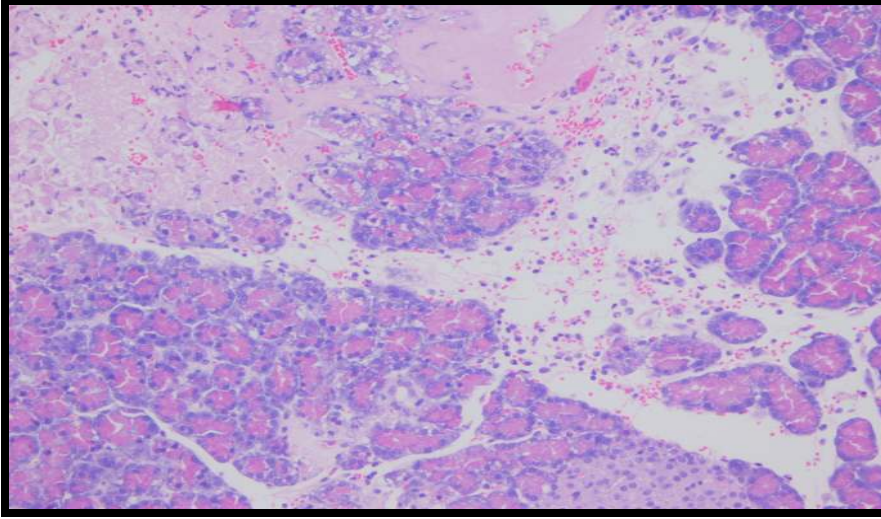


**Resim VIIIId.** 24. saat çalışma grubuna ait pankreatik doku mikroskopisi; candesartan tedavisi ile pankreatik doku ödemi, asiner hücre dejenerasyonu, nekroz ve inflamasyonda azalmaya ait görünüm (H&E X200)





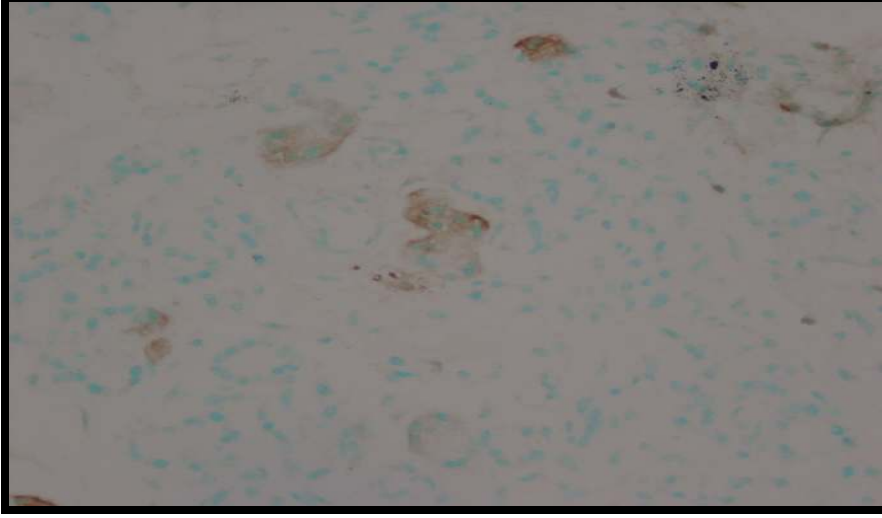
**Resim VIIIe.** 48. saat çalışma grubuna ait pankreatik doku mikroskopisi; candesartan tedavisi ile pankreatik doku ödemi, asiner hücre dejenerasyonu, nekroz ve inflamasyonda belirgin azalmaya ait görünüm (H&E X200)



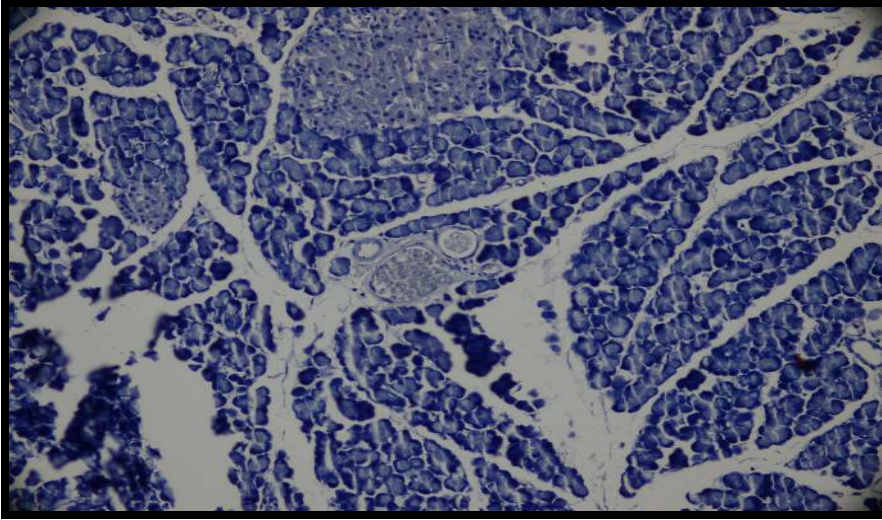
**Resim IXa.** 48. saat kontrol grubuna ait pankreatik doku endotelial hücre apoptozisine ait görünüm (SAB, DAB X200)



**Resim IXb.** 48. çalışma grubuna ait pankreatik doku endotelial hücre apoptozisinin azalmasına ait görünüm (SAB, DAB X200)

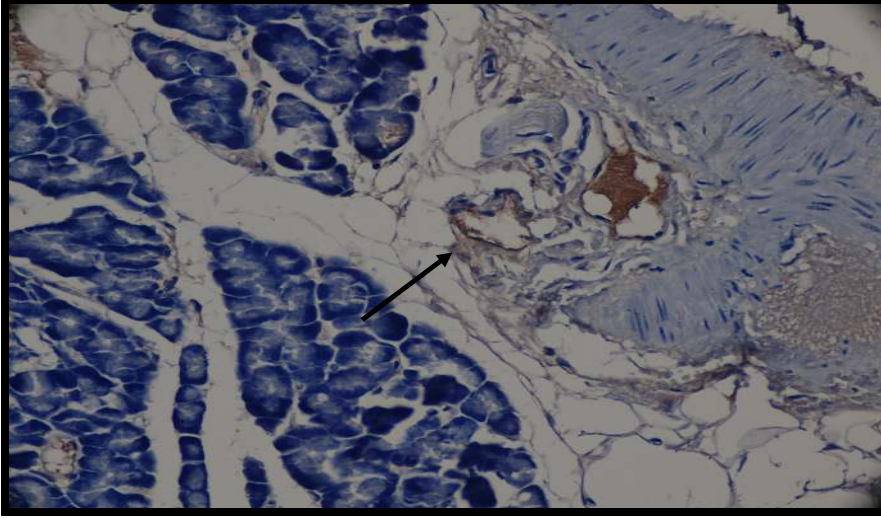


**Resim Xa.** Pankreatik doku, MMP-9 ile boyanma yok (10x20).

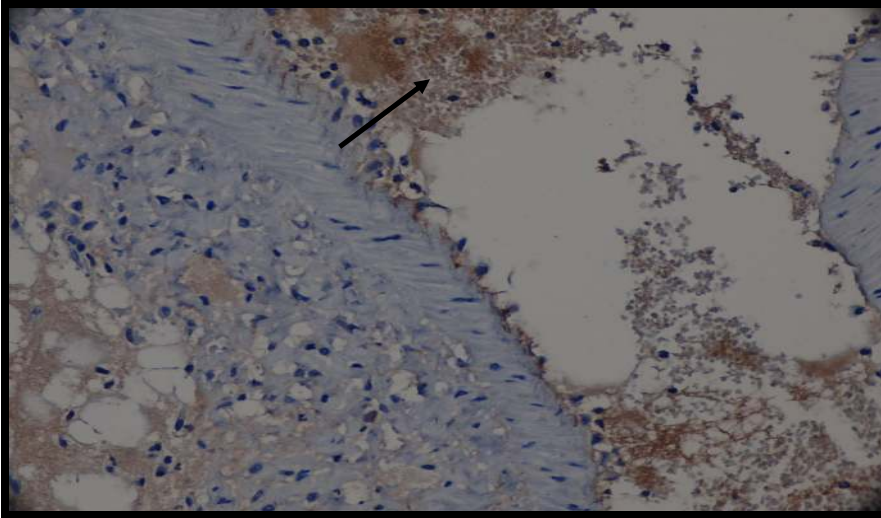




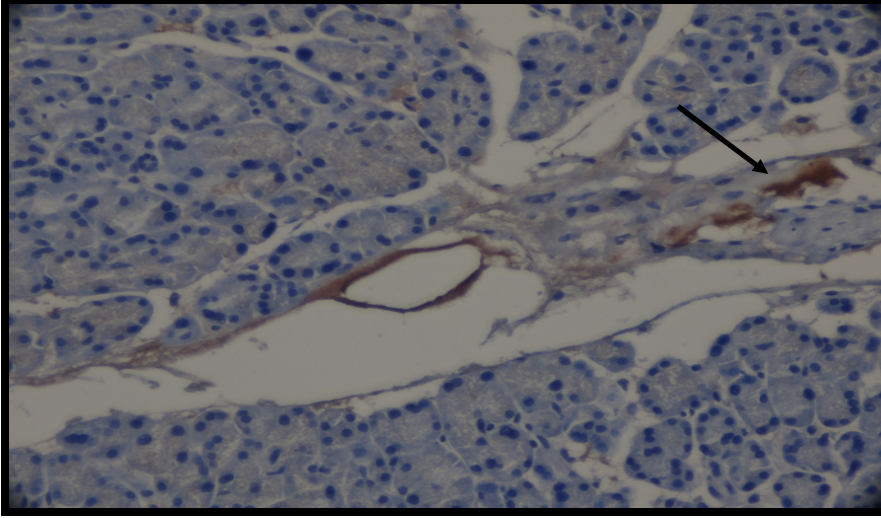
**Resim Xb.** MMP-9 ile yapılan immünhistokimyasal çalışmada pankreatik dokuda (+) boyanma (10x20).



**Resim Xc.** MMP-9 ile yapılan immünhistokimyasal çalışmada pankreatik dokuda (++) boyanma (10x40).



**Resim Xd.** MMP-9 ile yapılan immünhistokimyasal çalışmada pankreatik dokuda (+++) boyanma (10x40).



## 5 TARTIŞMA

Akut pankreatit hala yüksek morbidite ve mortalite oranları ile seyreden önemli bir hastalıktır (61). Pankreatik dokuda gelişen süreç sadece aktive olan pankreatik enzimlerin etkisiyle olmaz. Bunun yanında özellikle pankreatik dokuda endotel hücre hasarının olması hastalığın altta yatan fizyopatolojisinde temel bir noktadır. Özellikle son dönemlerde yapılan çalışmalarda; pankreatik dokuda gelişen mikrosirkülasyon bozukluklarının pankreatit patofizyolojisindeki gelişmelerde son derece önemli bir yere sahip olduğu kanıtlanmıştır (39). Ancak akut pankreatitte gelişen bu sürecin erken dönemdeki mikrosirkülatuar bozukluktan mı kaynaklandığı veya pankreatit sonrası ilerleyen süreçten mi geliştiği sorusu hala net olarak cevaplanabilmiş değildir (39).

Pankreatik mikrodolaşım bozukluğunun oluşumundaki süreç son derece komplikedir. Bu etkileşimde rol alan bir çok faktör bulunmaktadır; asiner hücrelerden salınan enzimler, vazoaktif mediatörler, vasküler permeabilitede artış, iskemi, iskemi-reperfüzyon bozuklukları, damar içinde pıhtılaşmalar, endotel hücre fonksiyonunda oluşan bozukluklar v.b.. Tüm bu faktörler sonucunda ise pankreatik ödem, yetersiz kapiller dolaşım ve arkasından hemorajilerle karakterize olan pankreatik doku nekrozu gelişmektedir (12, 33, 42, 64). ANP'te pankreatik injüriyi başlatan faktörün iskemi olduğu birçok çalışmada ortaya konulmuştur (28, 49, 60).

Pankreatik lobüllerin mikrovasküler yapısı pankreatik dokunun iskemiye ne kadar dayanıksız olduğunun bir delilidir. Çünkü her bir lobülü besleyen intralobüler arter santraldedir ve diğer lobülün arterleri ile anastomoz yapmadığı gibi çok fazla kollateral dolaşıma da sahip değildir. Yapılan çalışmalarda pankreatitnin erken döneminde dahi

mikrosirkülasyonda bozulmaların olduğu ve kollateral dolaşım ağının devreye girmediği ortaya konulmuştur (37, 81, 82).

Deneysel pankreatit modellerinde kanal içine verilen maddelerin düşük basınçla verilmesi gerekmektedir. Eğer pankreatit belirli maddelerin yüksek basınç ile intraduktal olarak verilmesi ile oluşturulursa enzimlerin parankime geçişi hızlanır ve mikrosirkülasyondan önce dokuda ciddi nekroz oluşturabilir. Bu model ile oluşturulan pankreatitler klinikle uygunluk göstermemektedir. Çünkü günümüzde klinik olarak pankreatitin erken döneminde mikrovasküler bozulmanın rol oynadığı kanıtlanmıştır kanıtlanmıştır. Başlangıçta gelişen bu mikrovasküler bozulma dokuda kapiller staza neden olur. Kapiller staz sonrasında hemokonsantrasyon ve intravasküler koagülasyon gerçekleşir. Bunun sonucunda serbest oksijen radikalleri devreye girerek pankreatik duktoasiner komplekste basınç artışına neden olur. Bundan sonraki aşamada bu basınç artışı lökosit-endotel ilişkisinin ön plana çıkmasına yol açar. Sonuçta oluşan asiner anormallik nedeniyle pankreatik enzimlerin aşırı salınımı, kanalda gelişen obstrüksiyon v.b. gibi sebeplerle organda otosindirim başlar (2). Serbest oksijen radikalleri özellikle kapiller ağda granülositlerin kemotaksisine neden olmaktadır. Kapiller ağda oluşan bu migrasyon ile endotel hücre membranında birtakım hasarlar oluşmakta ve endotel hücreleri pankreatit patogenezinde devreye girmektedirler. Bu nedenle yetersiz kapiller dolaşım oluşmaktadır (53).

Günümüze kadar pankreatik mikrodolaşımı ve endotel hasarını düzeltebilmek için bir çok farklı maddeler tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır. Ancak henüz tam olarak ANP'te pankreatitin başlangıç ve ilerleme sürecinde oluşan mikrodolaşım bozukluklarında bu maddelerin etkinlikleri kanıtlanamamıştır ve kullanılan bir çok madde klinik uygulamalarda

gündeme gelmemiştir (55). Bu çalışmada candesartan'ın endotel hasarı ve pankreatik mikrovasküler dolaşıma olan etkileri incelenmiştir.

Pankreas dokusunun mikrovasküler dolaşımı farklı tekniklerle ölçülebilir. Günümüzde kullanılan en önemli yöntem hiç şüphesiz ki intravital mikroskopidir. Ancak bu tekniğin her yerde kolaylıkla bulunması son derece zordur. Bu nedenle bu çalışmada pankreatik dokunun kan akımını değerlendirmede diğer bir önemli yöntem olan laser doppler flowmeter kullanılmıştır (19). AT-II düz kaslarda vazokonstriktör etkili potent bir maddedir. Pankreatik dokuda vazokonstriksiyon yanında endokrin yollarda pankreasın kan akımında azalma sağlar. Bir AT-II antagonisti olan candesartan'ın kullanımı ise hem vazodilatasyona neden olur hem de endokrin etki ile pankreatik dokuda kan akımını artırır (65). Bu çalışmada 24. ve 48. saat çalışma gruplarında, candesartan kullanımı ile pankreatik dokudaki mikrosirkülasyonun belirgin şekilde düzeldiği tespit edildi.

Serum pankreatik amilaz değerleri her zaman pankreatit tanısında ve pankreatitin şiddetinin belirlenmesinde yardımcı olamayabilir. Çünkü amilaz değerleri pankreatit dışı bir çok nedenle yükselebilmektedir. Ancak her şeye rağmen erken dönemde gelen hastalarda ilk 24-48 saat içinde kanda, daha geç dönemde ise idrarda tespit edilebilir (14). Bu çalışmada da serum pankreatik amilaz değerleri sadece kontrol grubunda sham grubuna göre yüksek olarak bulundu ve candesartan kullanımı ile amilaz arasında herhangi bir korelasyon tespit edilmedi.

MPO aktivitesi; nötrofil infiltrasyon düzeyinin ve dolayısıyla inflamasyon aktivitesinin bir göstergesi olarak kullanılabilir. MPO aktivitesi özellikle ANP'te pankreatitin şiddetinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Pankreatik dokuda gelişen nekroz sonrası oluşan lipid peroksidasyon düzeyinin ve oluşan serbest oksijen radikallerinin etkinliğinin belirlenmesini sağlar (80). Bu çalışmada ise candesartan verilen gruplarda MPO düzeyleri

kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu. Candesartan verilen gruplarda pankreatit şiddetinin azaltılması hem mikrovasküler dolaşımın düzenlenmesi ile hemde aşırı inflamatuvar yanıtın kontrol edilmesi ile sağlanabilir. Bu sonuçlar bize candesartan'ın mikrovasküler dolaşım üzerindeki etkinliğinin yanı sıra inflamatuvar süreç üzerinde de baskılayıcı etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

Pankreatik inflamasyon ve sonrasında gelişen fibrozis IL-6 salınımı ile yakından ilişkilidir. Özellikle ANP tablosunda IL-6 gibi sitokinler pankreatik ve ekstrapankreatik hasarda önemli fonksiyonlara sahiptirler (77). Yamada ve ark. yaptıkları çalışmada candesartan'ın sitokinleri azaltarak inflamasyonun azalmasına katkı sağladığını tespit etmişlerdir (78). Bu çalışmada ise özellikle pankreatitin geç döneminde daha belirgin yükselme gözlenen IL-6 düzeyinde candesartan verilen grupta belirgin olarak düşme tespit edilmiştir. İskemi veya nekroza sekonder gelişen inflamatuvar süreçte önemli bir sitokin olan IL-6 düzeyinin candesartan kullanımı ile azalması ANP'te oluşan iskemi veya nekroz gelişiminin bu tedavi basamağında düzeltilebileceğini göstermektedir.

TNF- $\alpha$  sistemik inflamatuvar yanıt sendromunda yer alan sitokin kaskadının ana elemanlarından birisidir. Önemli bir pro-apoptotik mediatör olarak bilinir ve özellikle endotel hücrelerinin apoptozisinde önemlidir (7). Özellikle akut pankreatitte asiner hücreler ve dolaşımdaki makrofajlardan pankreatitin erken döneminde salınır (76). Bu bize pankreatitin başlangıç döneminde gelişen mikrovasküler dolaşım bozukluğu sonucu gelişen endotel hücre hasarı ve asiner hücre nekrozunu gösterebilir. Bu çalışmada özellikle 48. saat kontrol grubunda gözlenen TNF- $\alpha$  yüksekliği candesartan verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma gösterdi. Bu sonuç; candesartan uygulanımı ile endotel hücre hasarının önlenmesi ve bunun sonucunda oluşan inflamatuvar sürecin azaltılması şeklinde açıklanabilir.

Akut pankreatitin erken döneminde asiner hücrelerden bol miktarda serbest oksijen radikalleri (SOR) salınır (69). Son derece reaktif olan bu radikaller biyolojik membranlardaki lipid ve protein yapısındaki maddeleri etkileyerek onların fonksiyonlarının bozulmasına neden olurlar (79). Endotel hücre ve asiner hücre membranlarında bu şekilde SOR tarafından etkilenir ve her iki hücreye ait fonksiyonlarda bozulmalar gözlenir. Bu inflamatuvar süreçte hem kapiller membranda kaçaklar oluşur hemde pankreatik ezimlerin açığa çıkması ile pankreatik dokuda hasar meydana gelir. Kapiller permeabilitede artış öncelikle dokuda ödem ile sonuçlanır (16). Bu çalışmada pankreatik ödem ve inflamasyon düzeyi ANP oluşturulan ve candesartan verilmeyen grupta belirgin olarak yüksekti. Candesartan verilmesi ile pankreatik ödem ve inflamatuvar süreçte gerilemeler olduğu gözlemlendi. Pankreatik asiner hücre hasarı ve nekroz ANP oluşturulup candesartan verilmeyen gruplardaki pankreatik ödem ve inflamasyona göre daha düşük seviyelerde gözlemlendi. Bu sonuçlar bize ANP erken döneminde SOR ile öncelikle inflamatuvar sürecin başladığını ve hemen sonrasında hem asiner hücre hemde endotel hasarı ile mikrovasküler dolaşımda bozulmaların olduğunu göstermektedir. Candesartan verilmesi ile bu süreçte gerilemelerin olması candesartan'ın özellikle pankreatik dokudaki ödem ve inflamasyonun azaltılmasında etkin olabileceğini göstermektedir.

Organizmadaki apoptozisle ilgili olarak bir çok faktör, gen ve mekanizma mevcuttur. ANP'te ise özellikle TNF ve serbest radikaller apoptozis patogenezinde önemli fonksiyon üstlenirler (26). Ancak bu süreç genellikle ANP'in ilerleyen dönemlerinde gözlenir. Erken dönemde ise daha yoğun olarak endotel hücre fonksiyon bozukluğu söz konusudur (41). Bu nedenle bu çalışmada da 48. saat kontrol grubunda pankreatik doku endotel hücre apoptotik aktivitesinde hafif bir yükselik olmasına rağmen, kontrol gruplarındaki endotel hücre apoptozis aktivitesi istatistiksel olarak anlam ifade edecek kadar belirgin değildi. Buna

rağmen candesartan verilen gruplarda endotelial hücre apoptozis aktivitesinde gerilemenin olduğu görüldü.

MMP-9 seviyesinin artması bazal membranın bozulmasına neden olur. Buna bağlı olarak vasküler permeabilitede artış gözlenir (54). MMP-9 upregülasyonu lökosit-endotelial hücre adezyonunun ilerlemesine neden olur. Nötrofilin dokuya göçü nedeniyle dokuda önemli patolojik değişiklikler gözlenir (21). Daha önce yapılan çalışmalarda ANP'te MMP-9 inhibitörü kullanımı ile özellikle akciğerde kapiller kaçakta düzelmelerin olduğu tespit edilmiştir (35). Williams ve ark. yaptıkları çalışmada captopril kullanımı ile MMP-9 seviyesinde azalma tespit etmişlerdir (75). Muhs ve ark. ise akut pankreatitte MMP-9 inhibisyonu ile pankreatitin lokal ve sistemik komplikasyonlarında azalmanın olduğunu göstermişlerdir (51). Mikami ve ark. yaptıkları çalışmada MMP-9 salınımı ile vasküler bazal membranda bozulma sonucunda vasküler permeabilitede artış tespit etmişlerdir (47). Bu çalışmada özellikle geç dönemde candesartan ile tedavi edilmeyen grupta MMP-9 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bir AT-II antagonisti olan candesartan kullanımı ile MMP-9 seviyesinde azalma tespit edilmiştir. Bu bize ANP'te candesartan'ın MMP-9 seviyesini azaltarak, bazal membran hasarını önleyip pankreatik dokuda mikrovasküler dolaşımı düzenlenlediğini göstermektedir.

Sonuç olarak; candesartanın ANP'te kullanımı ile pankreatik dokudaki mikrovasküler dolaşım düzelmekte, interstisyel ödem ve inflamasyon azalmakta ve MMP-9 düzeyleri düşmektedir. ANP'in başlangıç döneminde ana problem olan mikrovasküler dolaşımın düzeltilmesi ile pankreatitin progresyonunda gerileme sağlanabilmektedir. Gelecekteki klinik çalışmalarda, ANP'te bir AT-II reseptör antagonisti olan candesartan'ın



kullanımı ile etyopatogeneizde sorumlu tutulan bozulmuş mikrovasküler dolaşımın düzenlenmesi sağlanabilecektir.

## 6 ÖZET

**Amaç:** Akut nekrotizan pankreatitte pankreatitin başlangıç döneminde etyopatogeneizde mikrosirkülasyon bozuklukları son derece önemlidir. Mikrosirkülasyon bozukluklarının önlenmesinde bugüne kadar bir çok madde kullanılmıştır. Ancak bu maddelerin klinikte kullanımı sınırlıdır. Bu çalışmada bir AT-II reseptör antagonisti olan candesartan'ın pankreatik mikrodolaşım üzerindeki etkinliğinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma her grupta 10 rat olacak şekilde oluşturuldu. Pankreatit ceruleinin intravenöz yolla, glycodeoxycholic asitin ise biliopankreatik kanala infüzyonları ile oluşturuldu. 24. ve 48. saat tedavi gruplarına 6. ve 18. saatlerde candesartan verildi. 24. ve 48. saatte kurban edilen ratlardan pankreatik doku kan akımı lazer doppler flowmeter ile ölçüldükten sonra, amilaz, myeloperoksidaz, IL-6 ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  için kan örnekleri, histopatolojik analiz, endotel hücre apoptozis değerlendirilmesi ve matriks metalloproteinaz-9 için pankreatik doku örnekleri alındı.

**Bulgular:** Pankreatik doku mikrosirkülasyon düzeyleri candesartan verilen gruplarda daha yüksek idi ( $p<0.05$ ). Myeloperoksidaz, IL-6 ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  düzeyleri candesartan verilen gruplarda daha düşük olarak bulundu ( $p<0.05$ ). Pankreatik dokunun histopatolojik analizinde pankreatik dokudaki ödem ve inflamasyonda candesartan tedavisi ile azalma tespit edildi ( $p<0.05$ ). Endotel hücre apoptozisinde candesartan tedavisi ile azalma tespit edildi ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). Pankreatik dokudaki matriks metalloproteinaz-9 düzeylerinde ise candesartan tedavisi ile azalma tespit edildi ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Akut nekrotizan pankreatitin erken döneminde kullanılan candesartan pankreatik doku mikrovasküler dolaşımı üzerinde olumlu etkilere sahiptir.

**Anahtar kelimeler:** Akut nekrotizan pankreatit, mikrovasküler dolaşım, candesartan

## 7 KAYNAKLAR

1. Alhan E, Türkyılmaz S, Erçin C, Kaklıkkaya N, Kural BV: Effects of omega-3 fatty acids on acute necrotizing pancreatitis in rats. *Eur Surg Res* 38: 314-321,2006
2. Andre EA, Costa PL, Guarita DR, Meirelles Filho JS, Laudanna AA: Changes in capillary permeability during severe experimental acute pancreatitis in rats. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 5: 184-188,1996
3. Bai Y, Liu Y, Jia L, Jiang H, Ji M, Lv N, Huang K, Zou X, Li Y, Tang C, Guo X, Peng X, Fang D, Wang B, Yang B, Wang L, Li Z: Severe acute pancreatitis in China: etiology and mortality in 1976 patients. *Pancreas* 35: 232-237,2007
4. Banks PA: Infekted necrosis: morbidity and therapeutic consequences. *Hepatogasroenterology* 38: 116-119,1991
5. Bockman DE : *Pancreas : Shackelford' s surgery of the alimentary tract*. 6<sup>th</sup> ed. Yeo CJ (ed) Elsevier Saunders, Philedelphia 2007, S. 1287-1295
6. Bradley EL 3rd: A clinically based classification system for acute pancreatitis. Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis, Atlanta, Ga, September 11 through 13, 1992. *Arch Surg* 128: 586-590,1993
7. Buchman TG, Abello PA, Smith EH, Bulkley GB: Induction of heat shock response leads to apoptosis in endothelial cells previously exposed to endotoxin. *Am J Physiol* 265: 165-170,1993
8. Carroll JK, Herrick B, Gipson T, Lee SP: Acute pancreatitis: diagnosis, prognosis, and treatment. *Am Fam Physician* 75: 1513-1520,2007

9. Carroll MC, Katzman P, Alicot EM, Koller BH, Geraghty DE, Orr HT, Strominger JL, Spies T: Linkage map of the human major histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84: 8535-8539,1987
10. Chari ST, Smyrk TC, Levy MJ, Topazian MD, Takahashi N, Zhang L, Clain JE, Pearson RK, Petersen BT, Vege SS, Farnell MB: Diagnosis of autoimmune pancreatitis: the Mayo Clinic experience. *Clin Gastroenterol Hepatol* 4: 1010-1016,2006
11. Chatzicostas C, Roussomoustakaki M, Vardas E, Romanos J, Kouroumalis EA: Balthazar computed tomography severity index is superior to Ranson criteria and APACHE II and III scoring systems in predicting acute pancreatitis outcome. *J Clin Gastroenterol* 36: 253-260,2003
12. Chen HM, Hwang TL, Chen MF: The effect of gabexate mesilate on pancreatic and hepatic microcirculation in acute experimental pancreatitis in rats. *J Surg Res* 66: 147-153,1996
13. Chen P, Yuan Y, Wang S, Zhan L, Xu J: Captopril, an Angiotensin-converting enzyme inhibitor, attenuates the severity of acute pancreatitis in rats by reducing expression of matrix metalloproteinase 9. *Tohoku J Exp Med* 209: 99-107,2006
14. Chen YT, Chen CC, Wang SS, Chang FY, Lee SD: Rapid urinary trypsinogen-2 test strip in the diagnosis of acute pancreatitis. *Pancreas* 30: 243-247,2005
15. Clavien PA, Burgan S, Moossa AR: Serum enzymes and other laboratory tests in acute pancreatitis. *Br J Surg* 76: 1234-1243,1989

16. Dabrowski A, Konturek SJ, Konturek JW, Gabryelewicz A: Role of oxidative stress in the pathogenesis of caerulein-induced acute pancreatitis. *Eur J Pharmacol* 377: 1-11,1999
17. De Waele E, Op de Beeck B, De Waele B, Delvaux G: Magnetic resonance cholangiopancreatography in the preoperative assessment of patients with biliary pancreatitis. *Pancreatology* 7: 347-351,2007
18. do Amaral PC, Filho EA, Ettinger JE, Cunha AG, Cangussú HC, Lima Mde A, Fahel E: Common bile duct investigation in patients with mild biliary pancreatitis. When and how? A prospective analysis of 48 patients. *Hepatogastroenterology* 54: 1323-1325,2007
19. Dobosz M, Hac S, Mionskowska L, Dymecki D, Dobrowolski S, Wajda Z: Organ microcirculatory disturbances in experimental acute pancreatitis. A role of nitric oxide. *Physiol Res* 54: 363-368,2005
20. Eşrefoğlu M, Gül M, Ates B, Batçioğlu K, Selimoğlu MA: Antioxidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein-induced pancreatitis and associated liver injury in rats. *World J Gastroenterol* 12: 259-264,2006
21. Fernandez-Patron C, Zouki C, Whittall R, Chan JS, Davidge ST, Filep JG: Matrix metalloproteinases regulate neutrophil-endothelial cell adhesion through generation of endothelin-1[1-32]. *FASEB J* 15: 2230-2240,2001
22. Fomella LS, Galloway W: Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *Br J Surg* 82: 6-13,1995
23. Frick TW, Fernández-del Castillo C, Bimmler D, Warshaw AL: Elevated calcium and activation of trypsinogen in rat pancreatic acini. *Gut* 41: 339-343,1997

24. Gao HK, Zhou ZG, Han FH, Chen YQ, Yan WW, He T, Wang C, Wang Z: Differences in platelet endothelial cell adhesion molecule-1 expression between peripheral circulation and pancreatic microcirculation in cerulein-induced acute edematous pancreatitis. *World J Gastroenterol* 11: 661-664,2005
25. Gibbs DF, Warner RL, Weiss SJ, Johnson KJ, Varani J: Characterization of matrix metalloproteinases produced by rat alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol* 20: 1136-1144,1999
26. Gukovskaya AS, Perkins P, Zaninovic V, Sandoval D, Rutherford R, Fitzsimmons T, Pandol SJ, Poucell-Hatton S: Mechanisms of cell death after pancreatic duct obstruction in the opossum and the rat. *Gastroenterology* 110: 875-884,1996
27. Guyton AC, Hall JE : Textbook of medical physiology 11<sup>th</sup> ed (Elsevier, Philadelphia). 2006.S :799-802
28. Hegewald G, Nikulin A, Gmaz-Nikulin E, Plamenac P, Barenwald G: Ultrastructural changes of the human pancreas in acute shock. *Pathol Res Pract* 179: 610-615,1985
29. Hruban RH, Argani P, Ali SZ : The pancreas and extrahepatic biliary system : Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology. 4<sup>th</sup> ed. Silverberg SG (eds) Elsevier, Philadelphia 2006, S. 1549-1593
30. Ip SP, Tsang SW, Wong TP, Che CT, Leung PS: Saralasin, a nonspecific angiotensin II receptor antagonist, attenuates oxidative stress and tissue injury in cerulein-induced acute pancreatitis. *Pancreas* 26: 224-229,2003
31. Jambor de Sousa UL, Arnold M, Langhans W, Geary N, Leonhardt M: Caprylic acid infusion acts in the liver to decrease food intake in rats. *Physiol Behav* 87: 388-395,2006

32. Kaiser AM, Saluja AK, Sengupta A, Saluja M, Ster ML: Relationship between severity, necrosis, and apoptosis in five models of experimental acute pancreatitis. *Am J Physiol* 269: 1295-1304,1995
33. Kaplan MH: Pathogenesis of pancreatitis: a unified concept. *Int J Pancreatol* 1: 5-8,1986
34. Karne S, Gorelick FS: Etiopatogenesis of acute pancreatitis. *Surg Clin North Am* 79: 699-709,1999
35. Keck T, Balcom JH 4th, Fernández-del Castillo C, Antoniu BA, Warshaw AL: Matrix metalloproteinase-9 promotes neutrophil migration and alveolar capillary leakage in pancreatitis-associated lung injury in the rat. *Gastroenterology* 122: 188-201,2002
36. Keim V, Teich N, Fiedler F, Hartig W, Thiele G, Mössner J: A comparison of lipase and amylase in the diagnosis of acute pancreatitis in patients with abdominal pain. *Pancreas* 16: 45-49,1998
37. Klar E, Schratt W, Foitzik T, Buhr H, Herfarth C, Messmer K: Impact of microcirculatory flow pattern changes on the development of acute edematous and necrotizing pancreatitis in rabbit pancreas. *Dig Dis Sci* 39: 2639-2644,1994
38. Klöppel G: Acute pancreatitis. *Semin Diagn Pathol* 21: 221-226,2004
39. Kusterer K, Enghofer M, Zendler S, Blochle C, Usadel KH: Microcirculatory changes in sodium taurocholate-induced pancreatitis in rats. *Am J Physiol* 260: 346-351,1991
40. Larvin M, McMahon MJ: APACHE-II score for assessment and monitoring of acute pancreatitis. *Lancet* 2: 201-205,1989

41. Leindler L, Morschl E, László F, Mándi Y, Takács T, Jármai K, Farkas G: Importance of cytokines, nitric oxide, and apoptosis in the pathological process of necrotizing pancreatitis in rats. *Pancreas* 29: 157-161,2004
42. Leung PS, Chan WP, Nobiling R: Regulated expression of pancreatic renin-angiotensin system in experimental pancreatitis. *Mol Cell Endocrinol* 166: 121-128,2000
43. Lombardi B, Estes LW, Longnecker DS: Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by DL-ethionine fed with a choline-deficient diet. *Am J Pathol* 79: 465-480,1975
44. Lorentz K: Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 9. IFCC method for alpha-amylase (1,4-alpha-D-glucan 4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1). International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). Committee on Enzymes. *Clin Chem Lab Med* 36: 185-203,1998
45. Malleo G, Mazzon E, Siriwardena AK, Cuzzocrea S: Role of tumor necrosis factor-alpha in acute pancreatitis: from biological basis to clinical evidence. *Shock* 28: 130-140,2007
46. Meisner M: Biomarkers of sepsis: clinically useful? *Curr Opin Crit Care* 11: 473-480,2005
47. Mikami Y, Takeda K, Shibuya K, Qiu-Feng H, Egawa S, Sunamura M, Matsuno S: Peritoneal inflammatory cells in acute pancreatitis: Relationship of infiltration dynamics and cytokine production with severity of illness. *Surgery* 132: 86-92,2002



48. Miller IM, Irving MH: The value of the plain abdominal roentgenogram in the diagnosis of acute pancreatitis. *Am J Surg* 123: 671-673,1972
49. Moolenaar W, Lamers CB: Cholesterol crystal embolization and the digestive system. *Scand J Gastroenterol Suppl* 188: 69-72,1991
50. Moore KL, Dalley AF: Clinically oriented anatomy. 5<sup>th</sup> ed. (LWW, Baltimore) 2006.S :286-288
51. Muhs BE, Plitas G, Delgado Y, Ianus I, Shaw JP, Adelman MA, Lamparello P, Shamamian P, Gagne P: Temporal expression and activation of matrix metalloproteinases-2, -9, and membrane type 1-matrix metalloproteinase following acute hindlimb ischemia. *J Surg Res* 111: 8-15,2003
52. Nauseef WM: Insights into myeloperoxidase biosynthesis from its inherited deficiency. *J Mol Med* 76: 661-668,1998
53. Petersson U, Kallen R, Montgomery A, Borgstrom A: Role of oxygen-derived free radicals in protease activation after pancreas transplantation in the pig. *Transplantation* 65: 421-426,1998
54. Porter KE, Turner NA, O'Regan DJ, Ball SG: Tumor necrosis factor alpha induces human atrial myofibroblast proliferation, invasion and MMP-9 secretion: inhibition by simvastatin. *Cardiovasc Res* 64: 507-515,2004
55. Plusczyk T, Witzel B, Menger MD, Schilling M: ETA and ETB receptor function in pancreatitis-associated microcirculatory failure, inflammation, and parenchymal injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 285: 145-153,2003
56. Ranson JH: Etiological and prognostic factors in human acute pancreatitis: a review. *Am J Gastroenterol* 77: 633-638,1982

57. Saka M, Tuzun A, Ates Y, Bağcı S, Karaeren N, Dağalp K: Acute pancreatitis possibly due to arginine use: a case report. *Turk J Gastroenterol* 15: 56-58,2004
58. Sandborn WJ, Hanauer SB: Antitumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease: a review of agents, pharmacology, clinical results, and safety. *Inflamm Bowel Dis* 5: 119-133,1999
59. Sarr MG, Nagorney DM, Mucha P Jr, Farnell MB, Johnson CD: Acute necrotizing pancreatitis: management by planned, staged pancreatic necrosectomy/debridement and delayed primary wound closure over drains. *Br J Surg* 78: 576-581,1991
60. Sendur R, Pawlik WW: Vascular factors in the mechanism of acute pancreatitis. *Przegl Lek* 53: 41-45,1996
61. Slavin J, Ghaneh P, Sutton R, Hartley M, Rowlands P, Garvey C, Hughes M, Neoptolemos J: Management of necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol* 7: 476-481,2001
62. Ster ML : Exocrine pancreas : Sabiston Textbook of Surgery. 17<sup>th</sup> ed. Townsend CM (ed) Elsevier Saunders, Philadelphia 2004, S. 1643-1678
63. Stojanovic T, Bedke J, Gröne HJ, Proudfoot AE, Becker H, Markus P, Hecker M: Met-RANTES inhibition of mucosal perfusion failure in acute intestinal transplant rejection - role of endothelial cell-leukocyte interaction. *J Vasc Res* 39: 51-58,2002
64. Sunamura M, Yamauchi J, Shibuya K, Chen HM, Ding L, Takeda K, Kobari M, Matsuno S: Pancreatic microcirculation in acute pancreatitis. *J Hepatobil Pancreat Surg* 5: 62-68,1998
65. Tahmasebi M, Puddefoot JR, Inwang ER, Vinson GP: The tissue renin-angiotensin system in human pancreas. *J Endocrinol* 161: 317-322,1999

66. Tarpila E, Nystrom PO, Franzen L, Ihse I: Bacterial translocation during acute pancreatitis in rats. *Eur J Surg* 159: 109-113,1993
67. Thrivikraman KV, Huot RL, Plotsky PM: Jugular vein catheterization for repeated blood sampling in the unrestrained conscious rat. *Brain Res Brain Res Protoc* 10: 84-94,2002
68. Tsiotos GG, Luque-de León E, Sarr MG: Long-term outcome of necrotizing pancreatitis treated by necrosectomy. *Br J Surg* 85: 1650-1653,1998
69. Uruñuela A, Sevillano S, de la Mano AM, Manso MA, Orfao A, de Dios I: Time-course of oxygen free radical production in acinar cells during acute pancreatitis induced by pancreatic duct obstruction. *Biochim Biophys Acta* 1588: 159-164,2002
70. Visse R, Nagase H: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 92: 827-839,2003
71. Waldner H: Vascular mechanisms to induce acute pancreatitis. *Eur Surg Res* 24: 62-67,1992
72. Weber A, Friess H, Sill U, Buchler M: The closed duodenal loop technique. *Eur Surg Res* 24: 24-28,1992
73. Whitcomb DC: New insights into hereditary pancreatitis. *Curr Gastroenterol Rep* 1: 154-160,1999
74. Widdison AL, Karanjia ND: Pancreatic infection complicating acute pancreatitis. *Br J Surg* 80: 148-154,1993
75. Williams RN, Parsons SL, Morris TM, Rowlands BJ, Watson SA: Inhibition of matrix metalloproteinase activity and growth of gastric adenocarcinoma cells by an

- angiotensin converting enzyme inhibitor in in vitro and murine models. *Eur J Surg Oncol* 1: 1042-1050,2005
76. Xie MJ, Motoo Y, Su SB, Sawabu N: Expression of clusterin in pancreatic acinar cell injuries in vivo and in vitro. *Pancreas* 22: 126-134,2001
  77. Xie MJ, Motoo Y, Su SB, Sawabu N: Expression of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interferon-gamma in spontaneous chronic pancreatitis in the WBN/Kob rat. *Pancreas* 22: 400-408,2001
  78. Yamada T, Kuno A, Masuda K, Ogawa K, Sogawa M, Nakamura S, Ando T, Sano H, Nakazawa T, Ohara H, Nomura T, Joh T, Itoh M: Candesartan, an angiotensin II receptor antagonist, suppresses pancreatic inflammation and fibrosis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 307: 17-23,2003
  79. Yamamoto Y, Niki E, Eguchi J, Kamiya Y, Shimasaki H: Oxidation of biological membranes and its inhibition. Free radical chain oxidation of erythrocyte ghost membranes by oxygen. *Biochim Biophys Acta* 819: 29-36,1985
  80. Zhao M, Xue DB, Zheng B, Zhang WH, Pan SH, Sun B: Induction of apoptosis by artemisinin relieving the severity of inflammation in caerulein-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 13: 5612-5617,2007
  81. Zhou Z, Zeng Y, Yang P, Cheng Z, Zhao J, Shu Y, Gao X, Yan L, Zhang Z: Structure and function of pancreatic microcirculation. *Shengwu Yiyue Gongchengxue Zazhi* 18: 195-200,2001
  82. Zhou ZG, Gao XH: Morphology of pancreatic microcirculation in the monkey: light and scanning electron microscopic study. *Clin Anat* 8: 190-201,1995

83. Zyromski N, Murr MM: Evolving concepts in the pathophysiology of acute pancreatitis. *Surgery* 133: 235-237, 2003