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

RATLARDA DENEYSEL OLARAK GELİŞTİRİLEN AKUT PANKREATİTTE PROBİOTİK KULLANIMI VE ENEMANIN SEPTİK KOMPLİKASYONLARIN AZALTILMASINDAKİ YERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. BAHADIR OSMAN BOZKIRLI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. AHMET ZİYA ANADOL

ANKARA

MAYIS 2009

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

RATLARDA DENEYSEL OLARAK GELİŞTİRİLEN AKUT PANKREATİTTE PROBİOTİK KULLANIMI VE ENEMANIN SEPTİK KOMPLİKASYONLARIN AZALTILMASINDAKİ YERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. BAHADIR OSMAN BOZKIRLI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. AHMET ZİYA ANADOL

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBE-01/2009-26 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

MAYIS 2009

KISALTMALAR

AP: Akut Pankreatit

ANP: Akut Nekrotizan Pankreatit

AST: Aspartat Transaminaz

APACHE II: Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Araştırması (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) II

BBA: Büyük Büyütme Alanı

BK: Beyaz Küre

BT: Bilgisayarlı Tomografi

BUN: Kan Üre Azotu

CCK: Kolesistokinin

ELISA: Enzim ilintili immün test (Enzyme Linked Immunoassay)

LDH: Laktat Dehidrogenaz

MLN: Mezenterik Lenf Nodu

CTSI: Bilgisayarlı Tomografi Şiddet İndeksi

ERCP: Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi

IL-1: İnterlökin 1

MOF: Multiorgan Yetmezliği

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RT: Reverse Transcriptase

SIRS: Sistemik Enflamatuar Yanıt Sendromu

SMV: Süperior Mezenterik Arter

ŞAP: Şiddetli Akut Pankreatit

TNF-alfa: Tümör Nekrozis Faktör

USG: Ultrasonografi

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Pankreas 3

2.1.1. Pankreasın Embriyolojisi 3

2.1.2. Pankreasın Genel Anatomisi 4

2.1.3. Pankreasın Histolojisi 6

2.1.4. Pankreasın Fizyolojisi 6

2.1.5. Akut Pankreatit 9

2.1.5.1. Etyolojik Faktörler 10

2.1.5.2. Patofizyoloji 13

2.1.5.3. Tanı 16

2.1.5.4. Prognostik Göstergeler 19

2.1.5.5. Tedavi 21

2.1.6. Bazı Deneysel Pankreatit Modelleri 23

2.2. Çalışmada Kullanılan Parametreler 24

2.2.1. Amilaz 24

2.2.2. TNF-alfa 25

3.GEREÇ VE YÖNTEM 27

3.1. Cerrahi Prosedür 27

3.2. Deney Grupları 28

3.3. Biyokimyasal İnceleme 30

3.4. Kantitatif Kültür 30

3.5. TNF-alfa'nın Gösterilmesi 31

3.5.1. TNF-alfa ELISA 31

3.5.2. TNF-alfa RT-PCR **31**

3.6. Histopatolojik İnceleme **33**

3.7. İstatistiksel İnceleme **36**

4.BULGULAR **37**

4.1. Amilaz Düzeyleri **37**

4.2. TNF-alfa ELISA Sonuçları **37**

4.3.TNF-alfa'nın Pankreas Dokusundaki Ekspresyonu **38**

4.4. Mikrobiyolojik Değerlendirme Bulguları **39**

4.5 Histopatolojik İnceleme Bulguları **43**

5. TARTIŞMA **55**

6. SONUÇ **69**

7. KAYNAKLAR **70**

8. ÖZET **83**

9.SUMMARY **85**

10. ÖZGEÇMİŞ **87**

RESİMLERİN DİZİNİ

Resim 1. Biliopankreatik Duktusun Transduodenal Kateterizasyonu 28
ve Taurokolat İnfüzyonu

Resim 2. Deneklerin Genel Anestezi Altında Kan Alınarak Sakrifiye Edilmesi 35

Resim 3. Kontrol Grubundaki Bir Deneğin İkinci Laparotomisi ve 35
Doku Örneklerinin Alınması

Resim 4. Sham Grubundan Bir Rata Ait Normal Görünümlü Pankreas 46
Dokusunun 1x200'lük Büyütmede Görünümü

Resim 5. Kontrol Grubundaki Bir rata Ait Pankreas Dokusunda 46
Asiner Nekroz Alanının 1x400'lük Büyütmede Görünümü

Resim 6. Aynı Alanın 1x1000'lik Büyütmede Görünümü 47

Resim 7. Aynı Pankreas Dokusunda İntraasiner Ödem 47
Alanının1x200'lük Büyütmede Görünümü

Resim 8. Aynı Pankreas Dokusunda Yağ Nekrozu Alanlarının 48
1x200'lük Büyütmede Görünümü

Resim 9. Aynı Pankreas Dokusunda Enflamasyon Alanının 48
1x200'lük Büyütmede Görünümü

Resim 10. Lavman Grubundan Bir Ratın Pankreasında 49
Yağ Nekrozu ve Enflamasyon Alanının 1x400'lük Büyütmede Görünümü

Resim 11. Aynı Pankreasta Asiner Nekroz Alanının 1x1000'lik 49
Büyütmede Görünümü

Resim 12. Aynı Pankreasta İntraasiner Ödem Alanının 50
1x200'lük Büyütmede Görünümü

Resim 13. Probiyotik Grubundan Bir Deneğe Ait Pankreas 50
Dokusunda Asiner Nekroz Alanının1x1000'lik Büyütmede Görünümü

Resim 14. Aynı Pankreas Dokusunda Diffüz İnterasiner 51
Ödem Alanının 1x100'lük Büyütmede Görünümü
Resim 15. Aynı Pankreas Dokusunun 1x400'lük Büyütmede Görünümü 51
Resim 16. Aynı Alanın 1x1000'lik Büyütme ile Görünümü 52
Resim 17. Probiyotik Grubundan Başka Bir Deneğin Pankreasında 52
Yağ Nekrozu ve Asiner Nekrozun Birlikte Bulunduğu Bir Alanın 1x400'lük
Büyütmede Görünümü
Resim 18. Probiyotik+Lavman Grubundan Bir Deneğe Ait Pankreas 53
Dokusunda Perivasküler Enflamasyonun 1x400'lük Büyütme ile Görünümü
Resim 19. Aynı Alanın 1x1000'lik Büyütmede Görünümü 53
Resim 20. Aynı Pankreasta Fokal İnterasiner Ödem ve Asiner 54
Nekroz Alanının 1x200'lük Büyütmede Görünümü.

TABLOLARIN DİZİNİ

Tablo1. Akut Pankreatitteki Etyolojik Faktörler 10

Tablo 2. Pankreatitte Bilgisayarlı Tomografi Şiddet İndeksi (CTSI) 18

Tablo 3. Ranson'un Pankreatit İçin Prognostik Göstergeleri 19

Tablo 4. İmrie Skorlama Sistemi 19

Tablo 5. APACHE II Kriterleri 20

Tablo 6. Schmidt'in Histopatolojik Skorlama Kriterleri 34

Tablo 7. Gruplara Göre Serum TNF-alfa Düzeyleri ve Doku TNF-alfa Ekspresyonları 39

Tablo 8. Gruplara Göre Organ Kültürlerindeki Üremeler. 40

Tablo 9. Gruplardaki Pankreatit Şiddetleri 44

GRAFİKLERİN DİZİNİ

Grafik 1. Grupların Serum TNF-alfa Düzeyleri 39

Grafik 2. Grupların Doku TNF-alfa Ekspresyon Düzeyleri 39

Grafik 3. Gruplara Göre Üreme Olan Karaciğer Sayıları 41

Grafik 4. Gruplara Göre Üreme Olan Dalak Sayısı 41

Grafik 5. Gruplara Göre MLN'sinde Üreme Olan Rat Sayısı 42

Grafik 6. Gruplara Göre Üreme Olan Pankreas Sayısı 42

Grafik 7. Gruplara Göre Üreme Olan Duodenum Sayısı 43

Grafik 8. Bütün Grupların Ödem Skroru, Asiner Nekroz Skoru, Enflamatuar İnfiltrasyon ve Perivasküler Enflamasyon Skoru ile Hemoraji ve Yağ Nekrozu Skorlarının Ortalama Değerleri 45

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreatik nekrozun sekonder enfeksiyonu akut pankreatitteki ölümlerin başlıca nedenidir (1). Bu durum ciddi akut pankreatitteki ölümlerin %80'inden fazlasından sorumludur (2). Pankreatik ve peripankreatik enfeksiyonların gelişimi akut respiratuar distres sendromu ve multiorgan yetmezliği gibi ciddi sistemik komplikasyonları tetikleyen önemli bir lokal komplikasyondur (3, 4). Ciddi akut pankreatitte pankreatik ve peripankreatik enfeksiyonların gelişim oranı %20-40 arasında bildirilmiştir. Yakın zamana kadar akut pankreatitte septik komplikasyonların kaynağı bir bilinmeyen olarak kalmıştır. Doksanlı yılların başlarından beri pankreatik ve peripankreatik enfeksiyon ve sepsise yol açan bakterilerin kaynağı olarak barsak florası gösterilmektedir (5). Translokasyon kaynağı olarak kolonik floraya odaklanan araştırmacılar olduğu gibi son zamanlarda üst gastrointestinal sistem, asıl translokasyon kaynağı olarak görülmektedir (1). Akut pankreatitte ortaya çıkan barsak dismotilitesine bağlı olarak ince barsakta bakteri sayısında artış olmakta, pankreatite bağlı olarak ince barsak kanlanmasında ortaya çıkan azalma ile mukozal iskemi ve reperfüzyon hasarı ortaya çıkmakta ve akut pankreatite ve meydana gelen intestinal enflamasyona bağlı olarak sistemik enflamatuar yanıt ortaya çıkmaktadır. Bu mekanizmalarla bakteriyel translokasyon meydana gelir (6, 7). Bakteriyel ürünlerin TNF-alfa salgısına neden olduğu düşünülürse bakteriel translokasyonun yalnızca enfeksiyöz komplikasyonlardan değil, akut nekrotizan pankreatit

sırasında proenflamatuar sitokinlerin fazla üretilerek multiorgan yetmezliğine ve sepsise yol açmasından da sorumlu olduğu çıkarımı yapılabilir (8).

Bazı araştırmacılar, kalın barsak eneması, duodenal kanülasyonla salin infüzyonu, çekostomi ve kolonik lavaj gibi yöntemlerle barsak florasını seyreltmeyi denemişler ve olumlu sonuçlar almışlardır (5 , 9, 10).

Probiotik kullanımının da pankreatik nekrozun intestinal bakterilerle enfeksiyonunu ve bakteriyel translokasyonu engellediği birçok deneysel çalışmada gösterilmiştir. Akut pankreatit sırasında probiyotik kullanımının yararı konusunda yapılan az sayıda klinik çalımanın sonuçları çelişkilidir. Bu da probiyotiklerin bu alanda kullanımı ile ilgili bilgimizin yetersizliğini göstermektedir (7).

TNF-alfanın akut pankreatitin ve ilişkili sistemik komplikasyonların patogenezinde merkezi bir rolü vardır (11). Bununla birlikte akut pankreatitte probiotik kullanımı sonrasında bu sitokinin düzeylerindeki değişikliği gösteren çalışmalar yoktur.

Bu çalışmanın amacı deneysel olarak akut pankreatit geliştirilen ratlarda bakteriel translokasyonu engellemede ve proenflamatuar sitokinlerden TNF alfanın serum düzeylerinin etkilenmesinde probiotiklerin, enemanın ve bu iki tedavinin kombinasyonunun rolünü incelemektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Pankreas

Pankreas, insan bedenindeki belki de en “affetmeyen” ve birçok cerrahın gerekli değilse palpe etmekten bile kaçındığı bir organdır. Karnın derininde bulunan pankreas bir çok önemli yapı ve önemli kan damarları ile çevrelenmiştir. Görünüşte ufak olan bir travmaya maruz kalması bile pankreatik enzimlerin salınımına ve yaşamı tehdit eden pankreatite yol açabilir (12).

2.1.1. Pankreasın Embriyolojisi

Dördüncü haftada duodenumdan iki endodermal tomurcuk çıkar. Bunlar: karaciğer, safra kesesi ve safra kanallarını oluşturan hepatik divertikül ve pankreasın gövdesini ve kuyruğunu oluşturan dorsal pankreatik tomurcuktur (13). Dorsal pankreatik tomurcuk duodenumun arka kısmından gelişir. Ventral tomurcuk hepatik divertikülün tabanından, safra kanalının yanından ortaya çıkar (14). Zamanla duodenum C-kıvrımını oluşturmak için dönerken ventral pankreas ve distal safra kanalı da duodenumun arkasından saat yönünde dönerler ve sonunda duodenumun medialine, dorsal pankreasın inferioruna ve hafif posterioruna ve portal ve mezenterik damarların posterioruna gelirler (13). İki pankreatik primordianın birleşimi altıncı haftanın sonunda meydana gelir. Ventral tomurcuk, pankreas başının ve unsinat proçesinin bir kısmını oluşturur. Dorsal pankreas, unsinat proçesle pankreas başının geri kalan kısmı ile gövde ve kuyruğu oluşturur (14) .

2.1.2. Pankreasın Genel Anatomisi

Pankreas retroperitoneal bölgede bulunan, duodenumun C kıvrımı ile dalak hilusu arasında oblik pozisyonda uzanan, erişkinlerde 15-20 cm uzunlukta ve 75-100 gr ağırlıkta bir organdır (12). Karın arka duvarında 1. ve 2. lomber vertebralar hizasında bulunur (15). Başka hiçbir organ bu kadar fazla sayıda anatomik eleman tarafından bu kadar yakından çevrelenmemiştir. Yukarıda omental bursayla, anteriorda transvers mezokolonla ve aşağıda omentum majus ile ilişkilidir (14).

Busnardo ve ark. (16) yaptıkları çalışmada pankreasın sağ (sefaloservikal) ve sol (korporokaudat) olmak üzere iki anatomik segmentten oluştuğunu bulmuşlardır. Bu segmentlerin ana pankreatik duktus ve küçük bir arter tarafından birbirine bağlandığını ve birbirlerinden kötü kanlanan bir alanla ayrıldığını göstermişlerdir.

Pankreas anatomik olarak 5 bölüme ayrılır: Baş, unsinat (kanca benzeri) proçes, boyun, gövde ve kuyruk (17). Baş kısmı duodenumun C kıvrımının içinde ve transvers mezokolonun arkasındadır. Pankreasın baş kesiminin hemen arkasında vena kava, sağ renal arter ve her iki renal ven yer alır (12). Unsinat proçes pankreas başının bir uzantısıdır. Boyut ve şekil olarak oldukça farklılık gösterir (14). Pankreasın boyun kısmı, superior mezenterik damarların geçtiği ve portal venin pankreasın arkasında başladığı alan olarak tanımlanır (14). Pankreas boynu L1 ve L2 vertabraların önündedir (12). Bu pankreatik segment 1,5-2 cm uzunluğundadır ve önden kısmen pilor tarafından örtülmüştür. Boynun

posteriorunda superior mezenterik ven (SMV) ve splenik ven birleşerek portal veni oluşturur. İnferior mezenterik ven aynı sıklıkla splenik vene, SMV'ye ya da portal venin oluşum yerine dökülebilir (14). Gövde kesimi, süperior mezenterik damarların solundan başlar ve duodenumun dördüncü kesimi, Treitz ligamanı, bazı jejunal anslar ve transvers kolonun sol tarafı ile komşuluk gösterir (17).

Pankreas kuyruğu göreceli olarak hareketlidir. Olguların yarısında ucu dalak hilumuna ulaşır. Splenik arter ve splenik venin orijini ile birlikte pankreasın kuyruk kesimi splenorenal ligamanın iki tabakası arasında yer alır. Sol böbrekle komşuluğundan dolayı akut pankreatik enflamasyonda hastanın sol kostovertebral açısında sağa göre hassasiyet olabileceği gibi akut fazda interstisyel nefriti andırır şekilde hafif albuminüri saptanabilir (14).

Pankreas arterleri hem çöliyak trunkus hem de SMA'dan gelir. Venöz drenaj ise splenik, süperior mezenterik, ve portal venleredir.

Pankreas başının ve unsinat proçesin majör drenajı subpilorik, portal, mezenterik, mezokolik ve aortokaval nodlaradır. Gövde ve kuyruk ağırlıklı olarak çölyak, aortokaval, mezenterik, ve mezokolik nodlarla splenik hilumdaki nodlar tarafından drene edilir (13).

Pankreasın ana pankreatik duktusu (Wirsung kanalı), pankreasın kuyruğundan başlar ve duodenumda papilla Vateri'de sonlanır. Erişkinlerde baş kesimi içinde duktus 3,1 ila 4,8 mm çapındadır. Kuyruğa doğru incelerek 0,9-2,4 mm çapına düşer. Yaşlandıkça duktusun çapı artabilir (13).

2.1.3. Pankreasın Histolojisi

Pankreas bir organ içerisinde iki ayrı organ gibidir. Organın yaklaşık %80-90'ı sindirim enzimleri salgılayan ekzokrin bir bezdir. Geri kalan %10-20'lik kesim ise insülin, glukagon ve diğer bazı hormonları salgılayan Langerhans adacıklarından oluşan endokrin bezi oluşturur (18).

Ekzokrin kısım asiner ve duktal hücrelerden oluşmuştur. Asiner hücreler salgılarını merkezi yerleşimli ve ana pankreatik duktusla ilişkili olan asiner boşluğa boşaltırlar. Pankreastaki hücrelerin büyük kısmı asiner hücrelerdir. Duktal hücreler yalnızca %5'lik kesimi oluşturur. Histolojik olarak asiner hücreler bol miktarda endoplazmik retikulum ve apikalde bol miktarda zimojen granüller içerirler. Ana pankreatik duktusu çevreleyen hücreler, birçokları müsin granülleri içeren yüksek kolumnar hücrelerdir. Büyük duktuslardan daha küçük intralobuler ve interlobüler duktuslara gidildikçe duktusları çevreleyen hücreler düzleşir, küboidal bir konfigürasyon alır ve müsin granülleri artık görülmez (13).

2.1.4. Pankreasın Fizyolojisi

Pankreasın endokrin sekresyonu (başlıca insülin, glukagon ve somatostatin) yaşamın devamı için gereklidir. Bu salgılar Langerhans adacıklarından yapılır. Adacıklar boyanma özellikleri ve morfolojik özellikleri açısından üç tip hücreden oluşurlar:

-BETA hücreleri: İnsülin salgılarlar ve adacıkların %60-80'ini oluştururlar.

-ALFA hücreleri: Glukagon salgılarlar. Adacıkların %10-20'sini oluştururlar.

-DELTA hücreleri: Somatostatin salgılarlar. Adacıkların %10'unu oluştururlar (20).

Pankreas, ekzokrin fonksiyonunu her gün 2,5 litre berrak, renksiz, 6 ila 20 gr protein içeren bikarbonattan zengin pankreatik sıvıyı salgılayarak yapar (13). Salgı izotonik ve alkalidir (pH:8,0-8,3) (19). Bu salgı duodenal içeriğin alkalileştirilmesinde ve besinlerin sindirilmesinde önemli rol oynar. Yirmiden fazla sindirim enzimini bünyesinde bulundurur (13, 19). Laktasyondaki meme hariç tutulursa pankreas gram doku başına bütün diğer organlardan daha fazla protein sentezler. Proteinin %90'ı sindirim enzimlerinden oluşur. Sindirim enzimlerinin büyük kısmı asiner hücreler tarafından inaktif proenzimler ya da zimojenler halinde sentezlenip salgılanır. Sağlıklı kişide bu enzimler yalnızca duodenuma ulaştıktan sonra tripsinojenin enterokinaz tarafından aktive edilmesi ve tripsinin de diğer zimojenlerin aktivasyonunu katalize etmesi ile aktive olurlar. Pankreas sindirim enzimlerinin bir kısmı (ör: amilaz, lipaz, ribonükleaz) bir aktivasyon basamağına gerek olmadan aktif formlarında sentezlenip sekrete edilirler. Asiner hücreler aynı zamanda sekrete edilmek için değil; asiner hücrelerin kendi içinde kullanılmak üzere bazı enzimleri de içeren proteinler sentezlerler. Bunlara çeşitli yapısal proteinlerle lizozomal hidrolazlar örnek gösterilebilir (13).

Asiner hücrelerden protein sentezi hormonlarla kontrol edilen bir süreçtir. Pankreatik asiner hücrelerde asetil kolin, kolesistokinin (CCK), sekretin ve vazoaktif intestinal peptid reseptörleri vardır (13).

Asiner hücreler uyarıldıklarında az miktarda serum benzeri sıvı salgılasalar da pankreasın salgıladığı sıvı ve elektrolitlerin büyük kısmı duktal hücrelerden gelir. Duktal elektrolit sekresyonunun ilk basamağı dolaşımdaki karbon dioksitin duktal hücrelerin içine diffüzyonunu ve karbonik anhidraz tarafından hidrate edilerek karbonik aside dönüşmesini içerir. Takiben karbonik asit protonlara ve bikarbonat iyonlarına dönüşür. Protonlar hücrenin dışına diffüze olarak dolaşımla uzaklaştırılırken bikarbonat hücrenin içinde kalır. Sıvı elektrolit sekrete ettirici hormon olan sekretin siklik AMP aracılı bir süreç üzerinden hücrelerin apikal yüzündeki kistik fibrozis transmembran regülatör (klor) kanalları yolu ile klor sekresyonunu uyarır. Sonra apikal klor-bikarbonat değiştiricisi (apical chlor-bicharnonate exchanger) yolu ile aktif olarak sekrete edilmiş olan klor, duktal hücreler tarafından bikarbonatla değiştirilerek geri alınır. Birlikte değerlendirildiğindiğinde bu olayların sonucu, bikarbonattan zengin sıvının duktusa sekresyonu ve protonların dolaşıma verilmesidir. Sekretinle uyarımın yokluğunda pankreatik sıvı asıl asiner hücre salgısından oluştuğu için ve bikarbonatla değiştirilecek az miktarda duktal klor sekresyonu olduğu için daha plazma benzeri bir bileşime sahiptir. Sekresyonun stimülasyonu ile klor sekresyonu artar, akış hızlanır ve klor-bikarbonat değişimi bikarbonatın fazla, klorun az olduğu pankreas sıvısı ile sonuçlanır (13).

2.1.5. Akut Pankreatit

Akut pankreatit, pankreasın az fibrozisle ya da fibrozis olmadan seyreden enflamatuar bir hastalığıdır. Klinik olarak önceden sağlıklı olan bir kişide semptomların akut başlangıcı ve atak sona erdiğinde semptomların ortadan kalkması ile karakterizedir (12). Akut pankreatit (AP) hafif, kendini sınırlayan semptomları olan bir hastalıktan multiorgan yetmezliği ile giden fulminan bir süreç ve yüksek mortaliteye kadar değişen geniş spektrumlu bir hastalıktır (20).

ABD'de her sene yaklaşık 300000 hasta akut pankreatit geçirmektedir (12). Pankreatitili hastaların çoğu parenkimal ödem ile giden, uzak organ disfonksiyonu yapmayan ve sorunsuz iyileşen göreceli olarak hafif hastalık geçirmektedir. Bunun yanında, ciddi hastalıkta yaygın pankreatik nekroz, sistemik enflamatuar yanıt sendromu (SIRS), multiorgan yetmezliği, ani klinik bozulma ve hatta ölüm meydana gelebilir (20). AP'li hastaların % 10-20'si şiddetli akut pankreatit geçirir (13, 21). Akut pankreatitte mortalite oranları hafif, komplike olmayan hastalıkta %1-2; steril pankreatik nekrozda %20, enfekte nekrozda %30'dur (22).

Akut pankreatitteki patolojik değişiklikler, parenkimal ve peripankreatik yağ nekrozunu ve birliktelik gösteren enflamatuar yanıtı içerir. Bu değişikliklerin yaygınlığı doğrudan atağın şiddeti ile ilişkilidir. Hafif pankreatitte değişiklikler genelde interstisyel ödemi, göreceli olarak az nekrozla giden enflamatuar hücre infiltrasyonunu içerirken şiddetli pankreatitte ise yaygın nekroz, intrapankreatik damarların trombozu, vasküler bozulma, ve inraparenkimal hemoraji gözlenebilir.

2.1.5.1. Etyolojik Faktörler

Akut pankreatitteki etyolojik faktörler aşağıdaki tablo 1'de özetlenmiştir (20)

Tablo1.Akut Pankreatitteki Etyolojik Faktörler

Metabolik Alkol Hiperlipoproteinemi Hiperkalsemi İlaçlar Genetik Akrep zehiri
Mekanik Kolelitiyazis Postoperatif Pankreas divisum Posttravmatik Retrograd pankreatografi Pankreatik kanal obstrüksiyonu: pankreatik tümör, askaris enfestasyonu Pankreatik kanal kanaması Duodenal obstrüksiuon
Vasküler Postoperatif (kardiyopulmoner bypass) Periarteritis nodoza Atheroembolizma
Enfeksiyon Kabakulak Koksaki B Sitomegalovirüs Kriptokokus

Safra yolu hastalıkları ve alkolizm tüm akut pankreatitlerin %90'ından sorumludur. Biliyer patolojiler birinci sıklıktaki nedeni oluşturur (23). Akalkülöz biliyer traktus hastalığına bağlı akut pankreatit vakaları kaydedilmiş olsa da birliktelik gösteren bilyier traktus anormalliklerinden en sık rastlananı biliyer kanal taşlarıdır (koledokolitiazis). Safra taşı hastalığı ile diğer akut pankreatit yapan sebepler (ör: pankreatik kanalın helmintik enfestasyonu, ya da kanalın tümörle obstrüksiyonu) arasında ortak bir fenomen, sürmekte olan pankreatik salgının obstrükte bir lümene dökülmesinden kaynalanan duktal hipertansiyondur.

Artan intraduktal basıncın küçük kanalların yırtılmasına ve pankreatik sıvının parenkime akmasına neden olduğu öne sürülmüştür. Pankreatik duktal sıvının pH'sı bikarbonat sekresyonu ile 8-9 arasında tutulsa da pankreatik dokunun 7 olan interstisyel pH'sı proteaz aktivasyonu için uygun ortam sağlar (12). Pankreatik duktal hipertansiyon ve obstrüksiyon akut pankreatiti başlatan faktörler gibi görünse de duktal hipertansiyonun pankreatik hasarı başlattığı mekanizma hala inceleme altındadır (24). Normal pankreasta sindirim zimojenleri ile lizozomal hidrolazlar hücre içinden birbirinden ayrı organellerde bulunurlar. Ancak, duktal obstrüksiyona, hipersekresyona, ya da hücresel hasara yanıt olarak asiner hücre içinde bu maddeler aynı ortamda bulunursa tripsinojenin katepsin B ile aynı ortamda bulunmasıyla aktive tripsin ortaya çıkar. Bu da diğer sindirim zimojenlerini aktive eder. Bu aktive sindirim enzimleri pankreatik asiner hücrelerin içinde pankreatite neden olan otosindirimi başlatır (12).

Alkolün AP yapıcı etkisi az miktarda ya da tek sefer alkol alanlarda da görülebilse de hastalık genelde en az 2 yıl ve daha uzun süre (10 yıla kadar) alkol alan kimselerde gözlenir. Diğer etyolojik faktörlerin yokluğunda alkol maruziyeti olan bir kişide ortaya çıkan ilk akut pankreatit atağı alkol ile ilişkili kabul edilir. Günde 100-150 gr alkol tüketen kimselerde %10-15 oranında pankreatit gelişimi söz konusudur (12).

Etanol, Oddi sfinkterinin spazmına neden olur. Daha önemlisi etanol, pankreatik asiner hücreler için enzim sentezi ve sekresyonunu bozan bir toksindir. İlk başta kısa bir sekretuar artışa yol açar. Bunu inhibisyon takip eder. Bu durum pankreatik duktusta enzim proteinlerinin artışına ve çökmesine yol açar. Bu

protein matriksinde sonradan kalsiyum presipite olup multipl duktal obstrüksiyonlara yol açabilir. Devam eden sekresyon intraduktal basınç artışına yol açabilir. Etanol aynı zamanda enzimlerin duktal permeabiliteyi de arttırarak uygunsuz olarak aktive olmuş enzimlerin çevre dokuya sızmasına olanak sağlar. Etanol aynı zamanda pankreatik kan akımını geçici olarak azaltır ve glandda fokal iskemik yaralanmaya yol açabilir (12).

Alkol kullanmayan ve gösterilmiş bilier trakt hastalığı olmayan akut pankreatitli bir hastada tümör akla gelmelidir. Akut pankreatitli hastaların %1-2'sinde pankreatik karsinoma vardır ve bir akut pankreatit atağı periampuller tümörün ilk klinik göstergesi olabilir (12).

Akut pankreatit pankreas biyopsisi, bilier duktal obstrüksiyon, biliyer duktal eksplorasyon, distal gastrektomi ve splenektomi gibi pankreas üzerinde ya da pankreasa yakın alanda yapılan cerrahi müdahalelerle; intraduodenal basıncı arttırabilen Billroth II operasyonu ile ilişkili iatrojenik olarak gelişebilir. Bununla birlikte kardiyopulmoner baypas ve kardiyak transplantasyon gibi düşük sistemik arteriyel basıncın olduğu operasyonlarla da ilişkili olabilir. Ateromatöz emboli veya iskemi de pankreatik hasara yol açabilir. Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi de doğrudan hasar ve/veya intraduktal hipertansiyona bağlı olarak pankreatite yol açabilir (12).

Birçok ilaç hiperamilazemi ve/veya karın ağrısı yapabilir. Akut pankreatite yol açabildiği bilinen ilaçlar tiazid grubu diüretikler, furosemid, östrojenler, azatioprine, L-asparaginaz, 6-mercaptopurin, metildopa,

sulfonamidler, tetrasiklin, pentamidin, prokainamid, nitrofurantoin, dideoksinozin, valproik asit ve asetilkolinesteraz inhibitörleridir.

Kabakulak, Cocsackie virüs ve Mycoplasma pneumonia'nın akut pankreatiti indüklediğine inanılır (12).

Tip I ve V hiperlipidemisi olan hastalar sıkça akut pankreatit ataklarına bağlı olduğu düşünülen karın ağrısı atakları geçirirler.

Akut pankreatit episodları birçok diğer neden tarafından da başlatılabilir. Hiperparatiroidi, Ascaris lumbricoides ve Chlonorsis cinensis infestasyonları da pankreatite yol açabilir. Otozomal dominant bir mutasyon herediter pankreatite yol açabilir. Pancreas divisum'lu hastaların %20-45'inde pankreatit gelişir. Azotemi, vaskülit ve Triniddian akrebinin sokması, antikolinesteraz insektisidleri ile zehirlenme de diğer faktörlerdir. Hiçbir neden bulunamayan akut pankreatitler de olabilir. Bunlara idiyopatik pankreatitler denir (12).

2.1.5.2. Patofizyoloji

Bugün kabul görmekte olan görüş, pankreatitin asiner hücrelerin içindeki sindirim enzimlerinin aktivasyonu ile başladığıdır (12,13).

Pankreatit gelişimi sırasında sindirim enzimlerinin sentez ve hücre içi transportunda bozukluk olmadığı; ancak pankreatik enzimlerin sekretuar outputunun azalmış olduğu gözlenmiştir.

Hastalığın çok erken döneminde sindirim enzimleri lizozomal hidrolaz katepsin B'yi de içeren sitoplazmik vakuollerin içinde bulunmaktadırlar. Katepsin

B'nin tripsinojeni aktive ettiği bilinmektedir. Çalışmalar bu kolokalizasyon nedeni ile tripsinojenin aktive olduğunu göstermektedir. Hücre içinde serbest kaldığında aktive tripsin hücre hasarı yaptığı gibi diğer proteazları da aktive edebilir (12).

Keck ve ark. (25), dolaşımdaki aktive tripsin ve elastazın lökositler ve endotel hücreleri üzerindeki adhezyon moleküllerini upregüle ettiğini göstermişlerdir. Bu etki, lökosit-endotel etkileşiminde artışa yol açarak pankreasta mikrodolaşımın bozulmasına yol açar (25).

Pankreas mikrodolaşımının bozulmasının diğer bir nedeni, lökositlerden ortaya çıkan mediatörler ve sitokinlerin damar duvarına doğrudan etki ederek damar duvarının geçirgenliğini arttırmaları, ödem ve trombus oluşumuna yol açmalarıdır (26).

Akut pankreatit sırasında ortaya çıkan lokal pankreatik hasar ve SIRS ve multiorgan yetmezliğinden lökositlerin aktivasyonu ve proenflamatuar sitokinlerin salınımı sorumludur (27).

Akut pankreatitin tablosu hafif, kendini sınırlayan bir rahatsızlıktan yaşamı tehtid eden bir duruma kadar değişiklik gösterebilir (28). Pankreatitin şiddetini belirleyen etkenler multifaktöriyeldir. Zimojenlerin intrapankreatik aktivasyonu ile başlayan olaylar zinciri; asiner hücre hasarı, proenflamatuar faktörlerin salınımı, asiner hücre nekrozu, SIRS, akciğer hasarını da içeren uzak organ disfonksiyonuna neden olur (12). Akut pankreatitin şiddeti SIRS'in yaygınlığına, birçok sitokin ve kemokine ve bunların enflamatuar hücrelerin aktivasyonuna ve etkilenmiş alana göç etmelerini sağlayan reseptörlerine dayanır. Pankreatit ve pankreatite bağlı multiorgan ve akciğer hasarı ile ilişkili faktörler tümör nekrozis

faktör-alfa (TNF-α), monosit kemotaktik protein-1, interlökin-1 (IL-1), platelet activating factor, adhezyon molekülleri (intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) ve selektinler), interlökin-6, interlökin-8, interlökin-10 (IL-10), macrophage migration inhibitory factor, cyclooxgenase-2, prostoglandin E1, nitrik oksid (NO) ve reaktif oksijen radikalleridir (12).

Pankreatitin şiddeti ve ilişkili akciğer hasarı proenflamatuar ve antienflamatuar sitokinlerin arasındaki dengeye bağlıdır. Enflamatuar yanıtı azaltmaya yönelik anti TNF-α antikorları, IL-1 reseptör antagonistleri, anti-ICAM-1 ve anti-CD-3 antikorları, IL10, rekombinant platelet aktive edici faktör asetilhidrolaz ve calcineurin antagonist FK506 gibi tedavi yaklaşımları bugüne kadar test edilmiştir (12).

Akut pankreatit sırasında interstisyumda oluşan ödem ve hücre infiltrasyonu ile oluşan tablo ödematöz pankreatit olarak adlandırılır. Olguların %70-80'inde patoloji bu haliyle sınırlı kalma eğilimindedir. Glandüler hücreler ve yağ dokusunun koagülasyon nekrozu bu tabloya eklendiğinde nekrotizan pankreatit ortaya çıkar (29). Akut pankreatit olgularının %20 kadarı pankreatik ve peripankreatik nekroz ile birliktelik gösterir (30). Damar duvarlarının elastaz ile tahrip olması sonucunda hemorajik pankreatit gelişir. Bu hemoraji deri altına kadar ulaşabilir. Ölü dokular, pankreatik sıvı, kan ve yağ damlacıkları pankreas içininde ya da çevresinde birikerek psödokistlere neden olur. Bu psödokistler retroperitoneal bölgeye doğru ya da çevre organlara bası yapacak şekilde büyüyebilirler. Periton irritasyonu sonucunda sıklıkla omentum minusta olmak üzere intraperitoneal alanda veya diyafragmatik lenfatikler yolu ile intraplevral

olarak sıvı birikimleri olabilir. Nekrotik materyalin veya pankreas sıvısı içeren koleksiyonların enfekte olması ile pankreatik abseler oluşabilir (29).

2.1.5.3. Tanı

Bütün akut pankreatit episodları, genellikle ağır bir yemeği takip eden şiddetli ağrı ile başlar. Ağrı genellikle epigastrik olsa da karnın herhangi bir yerinde ya da göğsün aşağı kesiminde olabilir. "Bıçak batması tarzında" ya da "sırta doğru delici tarzda" olarak tanımlanır ve hastanın öne doğru eğilmesi ile hafifleyebilir. Ağrıdan sonra bulantı ve kusma başlar. Öğürme midenin boşalmasından sonra da sürer. Ağrı kusma ile hafiflemez. Nekrotizan pankreatitte ağrı, ödematöz pankreatite göre daha fazladır. Bilinen kronik pankreatiti olan hastadaki akut pankreatik enflamasyon atakları aynı şekilde bulgu verir.

Fizik muayenede hasta taşikardik, takipneik, hipotansif, ve hipertermik olabilir. Komplike olmayan pankreatitte vücut sıcaklığı yalnızca hafif artmıştır. Epigastrik bölgede istemli ya da istemsiz defans görülebilir. Barsak sesleri azalmıştır ya da yoktur. Genellikle palpabl kitle yoktur. Karın intraabdominal sıvı nedeniyle distandü olabilir. Özellikle sol tarafta plöral efüzyon olabilir. Hastalığın şiddetinin artmasıyla ortaya çıkan ödem sıvısının retroperitoneal sekestrasyonu nedeniyle intravasküler sıvı kaybı hayatı tehdit edebilir. Hemakonsantrasyon sonucu hematokritte artış olabilir. Bununla birlikte retroperitona ya da peritoneal kaviteye kanama olabilir. Hastaların %1 kadarında nekrotizan pankreatitte kan yumuşak dokuları disseke ederek umbilikus çevresinde (Cullen Belirtisi) ya da flank bölgelerinde (Grey Turner Belirtisi) mavimsi bir renk değişikliğine neden

olabilir. Şiddetli sıvı kaybı, artmış kan üre nitrojeni ve artmış kreatinin düzeylerine, prerenal azotemiye neden olabilir. Hiperglisemi, hiperalbuminemi ve bazı olgularda tetaniye yol açabilecek düzeyde hipokalsemi olabilir (12).

Akut pankreatit için hiçbir laboratuar testi tek başına patognomonik değildir (31). Amilaz ve lipaz akut pankreatit tanısını koymakta en sık kullanılan göstergelerdir (32). Artmış amilaz ve lipaz düzeyleri ağrının başlangıcının üzerinden geçen süreye, diğer abdominal süreçlere, böbrek yetmezliği gibi eş zamanlı kronik hastalıklara bağlı olarak nonspesifik olabilir (33). Amilaz düzeyleri akut pankreatitle gelen alkolik hastalarda; özellikle de hasta daha önce alkole bağlı pankreatit atakları geçirdiyse normal olabilir. Plazma lipazı amilazdan daha sensitif ve spesifik olabilir (31). Yine de karın ağrısı ile birliktelik gösteren amilaz ve lipaz yüksekliğinin tanıda doğruluk oranı %90-95'tir (34).

Radyolojik testlerden düz karın grafileri ve akciğer grafileri genelde pankreatit tanısında yararsız olsalar da hastanın semptomlarının diğer nedenlerini (ör: pnömoni, içi boş organ perforasyonu, mekanik barsak obstrüksiyonu) saptamakta kullanılırlar (13). Karın USG'sinde barsak gazı pankreasın görüntülenmesini zorlaştırsa da pankreas görüntülenebilirse pankreasta büyüme, eko değişiklikleri, peripankreatik sıvı gözlenebilir (35). Ayrıca abdomen ultrasonu şüphelenilen akut biliyer pankreatitte safra taşlarının varlığının doğrulanmasında en iyi yöntemdir (12). Kontrastlı BT, akut pankreatitin saptanmasında standart görüntüleme tekniğidir. BT genellikle hafif, komplike olmayan pankreatit olgularında endike olmayıp klinik ve biyolojik kötüleşmenin gözlendiği hastalara saklanmalıdır. BT Şiddet İndeksi (Tablo 2) (Computerized Tomography Severity

Indeks/CTSI) mortalite ve morbidete de dahil olmak üzere pankreatitin istenmeyen sonuçlarını öngörmek için geliştirilmiştir:

Tablo 2. Pankreatitte Bilgisayarlı Tomografi Şiddet İndeksi (CTSI).

Şiddet Skoru: BT Derecesi + Nekroz Skoru (31).

BT derecelemesi	Nekroz Skorlaması
A→ normal pankreas (0 puan)	Nekroz yok (0 puan)
B→ ödemli pankreas (1 puan)	Üçte birden az (2 puan)
C→ B + hafif ekstrapankreatik değişiklikler (2 puan)	Üçte birden fazla; ama yarıdan az (4 puan)
D→ şiddetli ekstrapankreatik değişiklikler + sıvı koleksiyonu (3 puan)	Yarıdan fazla (6 puan)
E→ multipl ya da ekstensif sıvı koleksiyonları (4 puan)	

Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi ise pankreatitin daha ender nedenlerini araştırmakta kullanılır (mikrolitiazis, oddi sfinkteri fonksiyon bozuklukları, pankreas divisum, benign ya da malign pankreatik duktal striktürler gibi) . Biliyer sepsis, biliyer obstrüksiyonla giden şiddetli pankreatit, kolanjit, bilüribin yüksekliği, artan ya da süregen sarılık ve anormal ultrasonografi varlığında kötüleşen ağrı gibi durumlarda acil ERCP endikasyonu vardır (31).

Görüntüleme seçeneklerinden biri de manyetik rezonans görüntüleme olup preoperatif dönemde hangi hastanın ERCP'den fayda göreceğini gösterir (36). ERCP'nin başarısız olduğu ya da mümkün olmadığı hastalarda yararlıdır (37).

2.1.5.4. Prognostik Göstergeler

Klinikte en sık kullanılan skorlama sistemleri Ranson (Tablo 3) ve Imrie skorlama sistemleridir (Tablo 4) (13).

Tablo 3. Ranson'un Pankreatit İçin Prognostik Göstergeleri (12).

Safra taşlarına bağlı olmayan akut pankreatit için kriterler	
Kabul Anı	İlk 48 Saat
Yaş > 55	Hct düşüşü > 10
BK > 16000/mm³	BUN artışı > 5 mg/100 mL
Kan glukozu > 200mg/dL	Serum kalsiyumu < 8 mg/dL
LDH > 350 IU/L	Arteriyel PO2< 60 mm Hg
AST > 250 U/ Dl	Baz açığı > 4 mEq/L
	Tahmini sıvı sekestrasyonu > 6 L
Akut safra taşı pankreatiti için kriterler	
Kabul Anı	İlk 48 Saat
Yaş > 70	Hct düşüşü > 10
BK > 18000/mm³	BUN artışı > 2 mg/100 mL
Glukoz > 220/100 mL	Kalsiyum > 8 mg/100 mL
LDH > 40IU/L	Baz açığı > 5 mEq/L
AST > 250 U/100 mL	Sıvı sekestrasyonu > 4 L

Pozitif kriter sayısı ikiden azsa mortalite genellikle sıfırdır. Üç ila beş arası pozitif bulgu varsa mortalite %10-20, yediden fazla ise %50'den yüksektir (12).

Tablo 4.İmrie Skorlama Sistemi

Yaş>55
Beyaz kan hücresi sayısı>15000mm³
Kan glukozu 180 mg/dl (10 mmol/L), diyabeti olmayan hastalarda
Serum laktat dehidrogenazı>600 U/L
Serum AST veya ALT>100 U/L
Serum kalsiyumu<8 mg/dL
PaO2<60 mmHg
Serum albumini<3,2 g/Dl(32 g/L)
Serum üresi>45 mg/Dl (16,0 mmol/L)

Skorlama: Başvurudan sonraki 48. saatte pozitif olan her bulgu için bir puan (31).

APACHE II Skorlama Sistemi

Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Araştırması (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) sözcüklerinin başharfleri alınarak adı verilmiştir (12). Diğer sistemlerdeki 48 saat bekleme süresinin gerekliliğiyle karşılaştırıldığında APACHE II, ilk başvuru anında hesaplanabilmesi ve sonraki günlerde her gün yeniden hesaplanabilmesi nedeniyle avantajlı bir sistemdir. Ayrıca APACHE II hastalık sürecinin ve tedaviye yanıtın izlenmesinde yararlıdır. Skorda ilk 48 saatte artış görülen kişilerde hastalık şiddetli olma eğiliminde iken skorun azaldığı hastalarda akut pankreatit hafif seyretme eğilimindedir. Kırksekizinci saatte şiddetli atakları öngörmekte Ranson ve Glasgow skorları kadar etkin olduğu ve majör organ yetmezliği ve pankreatik sıvı koleksiyonlarını öngörmek konusunda üstün olduğu gösterilmiştir (22). Bu skorlama Tablo 5'te özetlenmiştir.

Tablo5.APACHE II Kriterleri

A.Fizyolojik değişkenler:	B.Yaş	C.Kronik Sağlık puanlaması
1.Rektal sıcaklık		
2.Ortalama arteriyel basınç		
3.Nabız		
4. Solunum hızı		
5. Oksijenasyon		
6. Arteriyel PH		
7.Serum sodyumu		
8. Serum potasyumu		
9. Serum kreatinini		
10. Hematokrit		
11. Beyaz küre		
12.Glasgow koma skalası (Skor=15-hastanın GCS'si)		

Not:Arteriyel kan gazı çalışılamıyorsa kan HCO3'ünü (venöz mMol/L) kullanınız (tercih edilmez).

Yapılan çalışmalarda başvuru anında APACHE II skorunun 7'nin üzerinde olmasının %68 oranında şiddetli bir atağı predikte ettiği görülmüştür (22).

Bu skorlama sistemlerinin dışında CTSI'nın skorlama sistemleri ile karşılaştırıldığında akut pankreatitin sonuçlarını daha doğru biçimde öngördüğü ileri süren çalışmalar vardır (38, 39).

2.1.5.5 Tedavi

Tanı konulduğunda orta-ağır şiddette hastalığı olan hastaların gözlem ve maksimal destek için yoğun bakım ünitesine yatırılması önemlidir. Sistemik komplikasyonları olmayan, düşük APACHE II ve Ranson skorları olan, devam eden klinik düzelmenin olduğu, BT'nin nekrotizan pankreatiti ekarte ettiği hafif pankreatit durumlarında tedavi büyük ölçüde destek tedavisidir (12).

Tedavide hastanın fizyolojik monitörizasyonuna dikkat edilmelidir. Sıvı-elektrolit dengesi hafif pankreatittte bile sıvı sekestrasyonu, kusma, aşırı terlemeye bağlı olarak ciddi ölçüde bozulmuş olabilir. Sıvı kayıpları çok yüksek miktarlarda olup hemokonsantrasyon ve hipovolemiye yol açabilir. Titiz sıvı elektrolit tedavisi gereklidir. Kusmalara bağlı hipokloremik metabolik alkaloz ortaya çıkabilir. Hipokalsemi sık olsa da genellikle albumin düzeyleri de düşüktür. İyonize kalsiyum düşük değilse tedaviye gerek yoktur. İyonize kalsiyumun düşük olduğu durumlarda agresif kalsiyum tedavisine gerek olabilir (13).

Nazogastrik dekompresyon bulantı ve kusmanın sık olduğu erken dönemde hastanın rahatlamasına katkıda bulunsa da pankreatit atağının

sonuçlarını değiştirmemektedir. Proton pompa inhibitörleri ve H2 reseptör blokörlerinin de yararı gösterilememiştir (13).

Ağrı tedavisi için birçok hasta narkotik ilaçlara ihtiyaç duyabilir. Meperidine ve analogları morfine tercih edilir; çünkü morfin Oddi sfinkterinde spazma yol açabilir (13).

Eğer bir enfeksiyon göstergesi varsa BT ya da USG eşliğinde iğne aspirasyonu ile Gram boyama ve kültür için sıvı ya da doku örneklemesi yapılır ve antibiyotik tedavisi başlanır. Enfekte koleksiyonlar kateter drenajı ile boşaltılabilir. Enfekte nekrozlarda ise konvansiyonel yaklaşım laparotomi ve nekrozun debridmanıdır (12,13).

Yapılan bazı çalışmalar şiddetli akut pankreatitte profilaktik antibiyotik kullanımının yaralı olduğunu gösterse de bu konuda fikir birliği yoktur (13).

Şiddetli pankreatiti olan hastalar uzun süre yemek yiyemezler ve bu da beslenme için alternatif bir yol gerektirir. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar parenteral beslenme yerine enteral beslenmeyi desteklemektedir (13, 40).

Hafif pankreatiti olan hastalarda rekürren atakların engellenmesinde sonunda ERCP ile duktusun temizlenmesi gerekebilir; ama genellikle atak birkaç gün içinde kendiliğinden düzeldiği için erken dönemde yapılacak bir endoskopiden nadiren yarar görürler. Şiddetli akut pankreatit için birçok kişi erken dönemde (ilk 48 saatten kısa sürede) endoskopik girişim uygulanmasını desteklese de ileri çalışmalar gerekmektedir.

Genellikle biliyer pankreatit geçiren hastalara taburculuk öncesinde bir çeşit kesin tedavi uygulanmalıdır ve bu tedavi atak düzelir düzelmez yapılmalıdır.

Daha önceden kolesistit veya biliyer kolik geçirmiş hastalarda kolesistektomi yapılmalıdır. Salt biliyer duktal sistemlerindeki taşlarla ilişkili sorunları (kolanjit veya biliyer pankreatit) olan hastlardaysa cerrahi riskleri yüksekse yalnız endoskopik girişim yapılmalı, cerrahi riski iyi olanlarda kolesistektomi yapılmalıdır (13).

2.1.6. Bazı Deneysel Pankreatit Modelleri

-Terminal bilier duktal sistemin bağlanması: Bu modelin, çok uzun bir ekstraduodenal bilier duktal sistemi olan ve kolayca bulunabilen bir pankreatik duktal sistemi olan Amerikan opossumlarında hemorajik nekrotizan pankreatit oluşturduğu bildirilmiştir (41,42). Tek başına pankreatik duktusun bağlanması da hemorajik nekrotizan pankreatite yol açmaktadır (43).

-Kolinden fakir ve etioninden zengin (CDE diyeti) diyet: Lombardi ve ark. (44) bu diyetle beslenen dişi farelerde hemorajik pankreatik nekroz geliştiğini göstermişlerdir.

-Caerulein uygulanması: Bir kolesistokinin analogu olan caerulein ile supramaksimal stimülasyon pankreatik asiner hücrelerdeki CCK reseptörleini aktive eder. CCK reseptörlerinin hiprestimülasyonunun reaktif oksijen radikallerinin intraselüler artışına neden olabileceği ve hücre iskeletindeki değişikliklerin enzimlerin intraselüler transpotunda bozulmaya neden olabileceği; enzimlerin intraselüler aktivasyonuna yol açabileceği öne sürülmüştür (45). Caerulein'le uyarılmış pankreatit, bozulmuş intraselüler transportu ve lizozomal

ve sindirim enzimlerinin kompartmanlaşmasını incelemek için değerli bir yöntemdir (46).

-L-arginin uygulaması: Mizunuma ve ark. 1984'te (47) intraperitoneal 500mg/100 g L-arginin enjeksiyonu ile pankreatit geliştiğini göstermişlerdir. Bundan sonra bir çok araştırmacı tarafından yüksek doz intraperitoneal L-arginine enjeksiyonu ile eksperimental nekrotizan pankreatit oluşturulmuştur (48).

-Vasküler oklüzyon: Zengin kollateral ağlar nedeniyle ana pankreatik arterlerin bağlanması patolojik değişikliklere neden olmaz. Pankreas venöz akımının tam oklüzyonu akut pankreatitteki gibi pankreasın hemorajik nekrozuna, mikrosirkülasyon bozukluklarına, ödem ve fokal parankimal nekroza yol açar (49).

- Pankreatik duktusa taurokolat infüzyonu: Taurokolat infüzyonu, farelerde akut nekrotizan pankreatit oluşturmak için güvenilir bir yöntemdir. Ancak mortalitenin ilk 24 saattte %60'a ulaştığı gösterilmiştir. Aynı model ratlarda da kullanılmıştır (50,51).

-Sekretuar Fosfolipaz A2'nin ratlarda ortak biliyer kanala enjekte edildiğinde pankreatit yaptığı bilinmektedir (52).

2.2.Çalışmada Kullanılan Parametreler

2.2.1.Amilaz

Amilaz ve Lipaz, akut pankreatit sırasında asiner hücrelerden salınır ve serum düzeyleri tanıyı doğrulamakta kullanılır. Üst normal sınırı üç kat aşan serum amilaz düzeyleri akut pankreatit tanısını destekler. Amilaz

konsantrasyonları semptomların başlangıcından sonraki birkaç saat içinde yükselir ve üç ila beş gün içinde normal düzeye geriler. Ancak amilaz düzeyleri %19 hastada başvuru anında normal olabilir. Makroamilazemi (anormal immünglobulinlerle amilaz arasında büyük moleküler komplekslerin oluştuğu bir sendrom), azalmış glomerüler filtrasyon, tükürük bezi hastalıkları, enflamasyonla giden ekstrapankreatik abdominal hastalıklar (ör: akut apandisit, kolesistit, intestinal obstrüksiyon veya iskemi, peptik ülser, jinekolojik hastalıklar) gibi durumlarda amilaz yükselebilir. Amilaz düzeyinin yüksek olduğu ve klinik durumun akut pankreatitle uyumlu olmadığı durumlarda hiperamilazeminin pankreatik olmayan sebepleri araştırılmalıdır. Takipte BT ile inceleme ve tekrar amilaz ölçümleri yararlı olabilir.

Serum lipaz konsantrasyonları amilaz konsantrasyonlarından daha uzun bir süre yüksek kalır. Bu durum gecikmiş prezentasyonun olduğu hastalarda amilaza karşı bir avantajdır Birçok diğer pankreatik enzim geçmiş yıllarda incelenmiş; ama hiçbiri amilaz ve lipaza karşı tanısal bir üstünlük kuramamıştır (53).

2.2.2. TNF-α

TNF-α, major olarak monosit/makrofaj kaynaklı olan; ama mast hücreleri, keratinositler, T hücreleri ve B hücreleri tarafından da salgılanan bir sitokindir. TNF-α hem apoptozisi başlataması hem de potent bir proenflamatuar mediatör olması açısından TNF ligand ailesinden ayrılır. Enflamasyonun TNF tarafından aktivasyonu en azından kısmen transkripsiyon faktörü NF-κB'nin aktivasyonuna bağlıdır. NF-κB'nin aktivasyonu apoptozisi suprese etmeye eğilimlidir (8).

TNF-α akut yaralanma ve enfeksiyonları takiben konakçı yanıtının en erken ortaya çıkan ve en güçlü mediatörleri arasındadır. Yarı ömrü 20 dakikadan kısa olsa da kısa süreli ortaya çıkışı belirgin metabolik ve hemodinamik değişiklikleri uyarır ve sitokin kaskadında daha distaldeki mediatörleri aktive eder. Stres sırasında kas katabolizmasını ve kaşeksiyi indükler (54).

Enflamatuar yanıttaki rolü nedeniyle TNF'nin üretiminin ya da etkisinin bloke edilerek, şiddetli ya da kontrol edilemeyen enflamasyon ile ilişkili durumlardaki tedavi etkisi araştırılmıştır. Salınan TNF-α'nın etkilerini nötralize eden en az iki ajan Crohn hastalığı ve romatoid artrit gibi önemli enflamatuar durumlarda önemli klinik etkinlik göstermiştir.

Enflamatuar yanıtla ilişkili sitokin ağı, konakçının enfeksiyona ve yaralanmaya yanıtının diğer bir bileşeni olan koagülasyon sistemiyle de birçok noktada etkileşime girer. TNF ve IL-1 doku faktörünün endotelyal hücrelerde ve monositlerde ekspresyonunu arttırarak koagülasyonun ekstrinsik yolunu aktive edebilir. Ek olarak bu sitokinler koagülasyonun endojen bir inhibitörü olan trombomodulinin endotelyal hücrelerdeki ekspresyonunu azaltır. Ekstrinsik yolun sepsisteki hastalarda DİK olmasa bile aktive olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (8).

TNF-α pankreatitle yakından ilişkilidir. TNF-α düzeylerinin şiddetli akut pankreatitli (ŞAP) hastalarda hafif akut pankreatitli (HAP) hastalara göre daha yüksek olduğu ve bütün hastaların TNF-α düzeylerinin kontrol hastalarına göre belirgin derecede yükseldiği; ama tedavi ile düştüğü gösterilmiştir (55).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada kullanılan deneysel hayvan modeli Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Çalışmada ağırlığı 200-250 gr arasında değişen dişi ratlar kullanıldı.

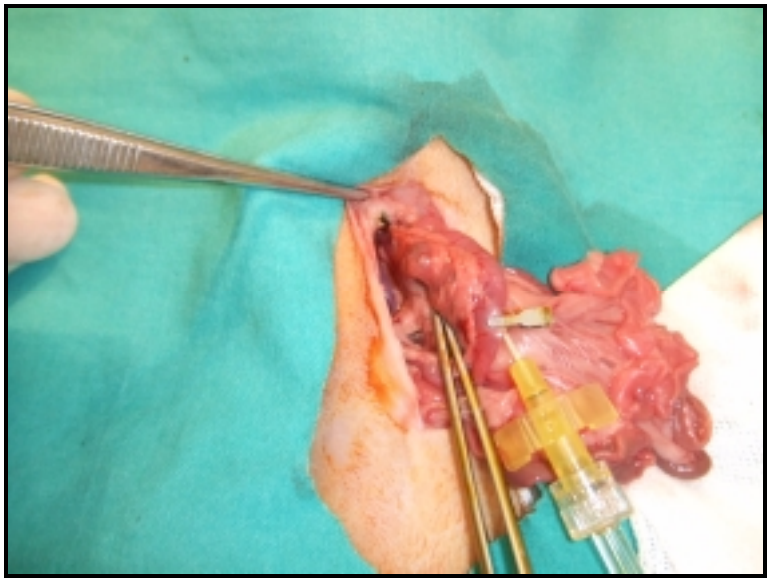
Ağırlıkları 200-250 gr arasında olan toplam 40 dişi rat 5 gruba randomize olarak bölündü ve her biri 8 rattan oluşan beş grup kullanıldı. Denekler, kafes başına 4 hayvan düşecek şekilde, uygun koşullar altında,12 saatlik ışık ve 12 saatlik karanlık sikluslarında barındırıldı. Çalışma boyunca oda sıcaklığı yaklaşık 21 °C dolayında tutuldu. Ratlar çalışma boyunca standart pelet yemle ad libidum beslendi. Su ihtiyaçları musluk suyu ile karşılandı. Ratlar çalışma boyunca aç bırakılmadı.

Deneklere anestezi, intramuskuler olarak 50 mg/kg Ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 5 mg/kg Xylazine (Rompun, Bayer Health Care, Germany) enjeksiyonu yapılarak sağlandı.

3.1.Cerrahi Prosedür

Anestezi yapıldıktan sonra ratların karınları tıraş edildi. Uygun saha temizliği ve örtümünü takiben orta hattan karına girilerek biliopankreatik kanal transduodenal olarak 24 numara venöz kateterle kanülize edildi. Bir adet mikroklip ile kateterin başı sabitlenirken başka bir mikroklip ile de ortak hepatik duktus geçici olarak oklüde edildi. Bundan sonra biliopankreatik duktusa perfüzör kullanılarak %3,5 sodyum taurokolat (Sigma and Aldrich, Almanya) 0,1mL/100gr olacak şekilde ve 2,4 mL/saat hızında infüze edildi (Resim1). İnfüzyon tamamlandıktan sonra mikroklipler ve kateter çıkarıldı. Kateterizasyon

sırasında duodenumda oluşturulan defekt 6/0 vikril ile tek sütür konularak onarıldıktan sonra karın içine 3 mL ılık serum fizyolojik verildi ve katlar uygun şekilde kapatıldı.



Resim 1. Biliopankreatik Duktusun Transduodenal Kateterizasyonu ve Taurokolat İnfüzyonu. (Kateterin çevresinde ve karaciğer hilusunda iki adet klip görülmektedir)

3.2.Deney Grupları

Grup I (Sham Grubu): Bu gruptaki ratlara anestezi altında eksploratif laparotomi uygulandı ve hayvanlar 48 saat boyunca takip edildi. Bazal değerler bu gruptan alındı.

Grup II (Kontrol Grubu): Bu gruptaki deneklere laparotomi uygulanarak pankreatik duktusları kanülize edildi ve pankreatik duktus içine taurokolat verilerek deneklerde şiddetli akut pankreatit oluşturuldu. Ratlar 48 saat boyunca gözlendi.

Grup III (Lavman Grubu): Bu gruptaki deneklere laparotomi uygulanarak pankreatik duktusları kanülize edildi ve pankreatik duktus içine taurokolat verilerek deneklerde şiddetli akut pankreatit oluşturuldu. Takiben postop 6 ve 24. saatlerde rektal yoldan 3 cc sodyum hidrojen fosfat solüsyonu uygulandı. Ratlar operasyon sonrasında 48 saat takip edildi.

Grup IV (Probiyotik Grubu): Bu gruptaki deneklere laparotomi uygulanarak pankreatik duktusları kanülize edildi ve pankreatik duktus içine taurokolat verilerek deneklerde şiddetli akut pankreatit oluşturuldu. Takiben postop 6 ve 24. saatlerde gavaj ile 2 kere olmak üzere 0,5'er ml'lik, 25 mg/kg probiyotik ajan olan Saccharomyces Boulardii (Reflor®, Biocodex) içeren süspansiyon doğrudan mideye verildi. Ratlar operasyon sonrasında 48 saat takip edildi.

Grup V (Probiyotik+Lavman Grubu): Bu gruptaki deneklere laparotomi uygulanarak pankreatik duktusları kanülize edildi ve pankreatik duktus içine taurokolat verilerek deneklerde şiddetli akut pankreatit oluşturuldu. Takiben postop 6 ve 24. saatlerde gavaj ile 2 kere olmak üzere 0,5'er ml'lik, 25 mg/kg Saccharomyces Boulardii içeren süspansiyon doğrudan mideye verildi. Aynı saatlerde rektal yoldan 3 mL sodyum hidrojen fosfat solüsyonu uygulandı. Ratlar operasyon sonrasında 48 saat takip edildi.

Bütün hayvanlar postop 48. saatte 50 mg/kg ketamine hydrochloride ve intramusküler 5 mg/kg xyalsine anestezisi altında kalpten ponksiyonla kan alınarak sakrifiye edildi (Resim 2). Kalpten ponksionla kan örnekleri alındıktan

sonra laparotomi yapılarak deneklerin mezenterik lenf nodları, karaciğer, dalak, pankreas ve duodenum doku örnekleri alındı (Resim3).

Her denekten alınan kan örneklerinin, 4 mL'si pediyatrik kan kültür şişesine, 3 mL'si amilaz ve lipaz düzeylerinin çalışılması için serum ayırma tüpüne, 1-2 mL'si serum TNF-alfa düzeyinin çalışılması için bir başka serum ayırma tüpüne konulacak şekilde paylaştırıldı. Alınan karaciğer, dalak, mezenterik lenf nodları, duodenum ve çekum örnekleri, tamamından kültür çalışılacak şekilde ayrılırken pankreas örnekleri; mikrobiyolojik kültür çalışması, realtime PCR ile doku TNF-alfa ekspresyonuna bakılması; ve oluşturulan pankreatitin şiddeti açısından histopatolojik inceleme için üçe bölündü.

3.3. Biyokimyasal İnceleme

Alınan kan örnekleri 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi ve eppendorf tüplerine alınan serum örneklerinden Roche-Integra otoanalizatöründe amilaz düzeyleri çalışıldı.Değerler mU/L olarak ifade edildi.

3.4. Kantitatif kültür

Mikrobiyolojik kültür için aseptik koşullarda alınarak ayrılan parçalar beyin-kalp infüzyon sıvı besiyerine alınarak mikrobiyoloji labarotuvarına ulaştırıldı. Her dokudan 1 gramlık örnek 1 ml sıvı besiyerinde homojenize edildikten sonra her örnek aerob kültür için %5 kanlı agara, eosin metilen blue agara ve Sabouraud dekstroz agara ekildi. Mikrobiyolojik inceleme 24-48 saat sonra yapıldı. Koloniler sayıldı ve üreyen koloniler fenotipik olarak isimlendirildi. Üreme miktarı koloni sayısı / 100 µl doku örneği olarak kayıt edildi.

Kan kültürü için pediatrik BacTec sıvı besiyerine 4 mL kan konarak 7 gün bekletidi. Üreme olması pozitif sonuç olarak kabul edildi. Kan kültüründe üreyen mikroorganizmalara tür tanımı yapıldı.

3.5. TNF-α'nın Gösterilmesi

3.5.1. TNF-α ELISA

3.5.2. TNF-α RT-PCR

3.5.1. ELISA Yöntemi ile TNF-α Sitokin Düzeylerinin Gösterilmesi

Ratlardan alınan kan örnekleri santrifüj edilerek elde edilen serum örnekleri -20^{0}C'de saklandı. Bu serum örneklerinde TNF-α düzeyleri ELISA yöntemi ile kantitatif olarak çalışıldı (Rat TNF-α ELISA, Biosource, ABD). Bunun için üretici firma önerilerine uygun olarak 50 µl serum örneği kullanıldı. ELISA plakları 450 nm'de okundu (Biotek, Almanya). Üretici firma tarafından hazırlanan standartların optic dansite (OD) değerleri okunarak bir standart eğrisi oluşturuldu. 0, 15.6, 31, 62.5, 125, 250, 500, 1000 pg/ml konsantrasyonundaki standartların OD değerleri karşılaştırıldı. Bu eğri kullanılarak her örnekte okunan optik dansite değerine karşılık gelen sitokin miktarı pg/ml cinsinden hesaplandı.

3.5.2. TNF-α RT-PCR

3.5.2.1. Pankreas doku örneğinden total RNA eldesi

Doku örneklerinden RNA elde edilmesi için High Pure RNA Tissue Kit (Roche, Almanya) kullanıldı . Üretici firma önerilerine uygun olarak, 100 µl örnek ile çalışıldı. Kit içeriğinde bulunan DNaz ile örneklerdeki olası DNA bulaşı engellendi. Elde edilen total RNA miktarları RNA ölçüm cihazında (NanoDrop,

ABD) ölçülerek RNA varlığı kontrol edildi.

3.5.2.2. Ters transkripsiyon (RT-PCR) ile cDNA eldesi

Total RNA'dan komplimenter DNA (cDNA) elde edilmesi için 1st Strand cDNA Synthesis Kit for RT-PCR (AMV) (Roche, Almanya) kullanıldı. Özgül olmayan randominze primer dizisi kullanılarak, 25 ve 45^0C'lik iki inkübasyon ile işlem tamamlandı.

3.5.2.3.TNF-alfa' yı kodlayan cDNA'ların Real Time PCR cihazında çoğaltılması

TNF-alfa için en az 10 ng cDNA kullanılıldı. cDNA LightCycler cihazı (Roche diagnostics, Tenay, Türkiye) ve LightCycler yazılımının 3.5 versionu kullanılıldı. Gerçek-zamanlı PCR amplifikasyon karışımı kalıp cDNA, SYBR Green master karışım tamponu ve her bir primerden (Forward 5'-TCGTAGCAAACCACCAAGCA-3' ve Reverse 5'-CCCTTGAAGAGAACCTGGGAGTA-3'(Apha DNA, Kanada) 100 pmol içerecek şekilde hazırlandı. Amplifikasyon 3 aşamada gerçekleştirildi: denatürasyon (95^0C' de 15 saniye, sıcaklık değişimi 20°C/saniye), hibridizasyon (zaman ve sıcaklık primerlere bağlı, sıcaklık değişimi 20^0C/saniye), uzama (72^0C'de primerlere göre değişen zamanlarda, sıcaklık değişimi 20^0C/saniye). Analiz 55-90^0C arasında (sıcaklık değişimi 0,2°C/saniye) basamaklı olarak gerçekleştirildi. Gerçek zamanlı PCR amplifikasyonu sonrasında, erime eğrisi analizleri incelendi.

3.5.2.4. Real-Time PCR'da TNF-alfa gen ifadesinin kantitatif analizi

Klinik örneklerden önce bir cDNA havuzunun 6 farklı dilüsyonu üç farklı

kopya olarak ölçüldü ve floresansın başladığı siklüs sayısı (Cp) ile gen ifadesinin logaritmik artışı arasında lineer regresyonla, kalibrasyon eğrisi çizildi.

Genlerin sayısal analizi için yapılan mutlak ölçüm (absolute quantification) sırasında, örnekteki hedef ile daha önce konsantrasyonu bilinen aynı hedefin standart eğrisi karşılaştırıldı. Standart eğriler, 10 kat seri dilüsyonlarla (10^2 -10^{10} kopya/µl), kopyalar ölçülerek (kuantifiye edilerek) oluşturuldu. TNF-α gen ifadesi miktarı kopya/ml olarak ölçüldü.

3.6. Histopatolojik İnceleme

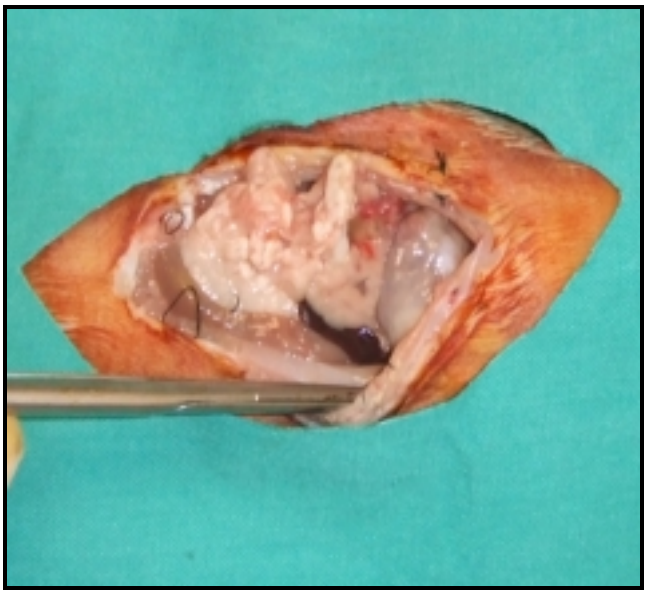
Histopatolojik inceleme için bir parça pankreas dokusu saklanarak %10 formaldehit solüsyonunda fikse edildi ve daha sonra parafine yatırıldı. Her örnekten iki adet longitüdinal kesit alınarak hematoksilen ve eozin boyaları ile boyandı. Bütün örnekler aynı patolog (GY) tarafından kör biçimde ışık mikroskobu altında akut pankreatitin şiddeti açısından incelendi. Pankreatitin şiddeti, Schmidt ve ark. (56) tarafından tanımlanan skorlama sistemi kullanılarak tanımlandı (Tablo 6).

Tablo.6 Histopatolojik Skorlama Kriterleri

Ödem	
0	Yok
0,5	İnterlober septaların fokal ekspansiyonu
1	İnterlober septaların diffüz ekspansiyonu
1,5	1'in aynısı + interlobuler septaların fokal ekspansiyonu
2	1'in aynısı + interlobuler septaların diffüz ekspansiyonu
2,5	2'nin aynısı + interasiner septaların fokal ekspansiyonu
3	2'nin aynısı + interasiner septaların diffüz ekspansiyonu
3,5	3'ün aynısı + interselüler aralıkların fokal ekspansiyonu
4	3'ün aynısı + interselüler aralıkların diffüz ekspansiyonu
Asiner nekroz	
0	Yok
0,5	BBA(Büyük büyütme alanı)'da 1-4 nekrotik hücrenin fokal varlığı
1	BBA'da 1-4 nekrotik hücrenin diffüz varlığı
1,5	1'in aynısı + BBA'da 5-10 nekrotik hücrenin fokal varlığı
2	BBA'da 5-10 nekrotik hücrenin diffüz varlığı
2,5	2'nin aynısı + BBA'da 11-16 nekrotik hücrenin fokal varlığı
3	BBA'da 11-16 nekrotik hücrenin diffüz varlığı (birleşen nekroz odakları)
3,5	3'ün aynısı + BBA'da >16 nekrotik hücrenin fokal varlığı
4	BBA'da >16 nekrotik hücre (yaygın olarak birleşen nekroz)
Hemoraji ve yağ nekrozu	
0	Yok
0,5	Tek odak
1	2 odak
1,5	3 odak
2	4 odak
2,5	5 odak
3	6 odak
3,5	7 odak
4	≥8 odak
Enflamasyon ve perivasküler infiltrasyon	
0	BBA'da 0-1 intralobuler veya perivasküler lökosit
0,5	BBA'da 2-5 intralobuler veya perivasküler lökosit
1	BBA'da 6-10 intralobuler veya perivasküler lökosit
1,5	BBA'da 11-15 intralobuler veya perivasküler lökosit
2	BBA'da 16-20 intralobuler veya perivasküler lökosit
2,5	BBA'da 21-25 intralobuler veya perivasküler lökosit
3	BBA'da 26-30 intralobuler veya perivasküler lökosit
3,5	BBA'da >30 lökosit ya da fokal mikroapseler
4	BBA'da >35 lökosit ya da birleşen mikroapseler



Resim 2. Deneklerin Genel Anestezi Altında Kan Alınarak Sakrifiye Edilmesi.



Resim 3. Kontrol Grubundaki Bir Deneğin İkinci Laparotomisi ve Doku Örneklerinin Alınması (Pankreas dokusunun gros görünüşü ödemli ve yer yer nekrotikti).

3.7. İstatistiksel İnceleme

Tüm istatistiksel hesaplamalar SPSS versiyon 11.00 (SPSS, Inc. Chicago, IL, USA) bilgisayar programı ile yapılmıştır. Gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı Mann Whitney testi kullanılarak bulundu. Parametreler arasındaki korelasyonlar Spearman ve Pearson Testleri kullanılırak hesaplandı. Çalışmada $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş ve sonuçlar ortalama ±SD olarak verilmiştir.

4.BULGULAR

Çalışmada üçüncü ve beşinci grupta ikişer rat kaybedildi. Ölen ratların yerine yenileri konuldu. Lavman yapılan hayvanların tamamında (grup 2 ve 5) hayvanların tamamında (%100) ishal gözlendi. Tek başına probiyoik alan ratlardan hiçbirinde bu bulguya rastlanmadı.

4.1. Amilaz Düzeyleri:

Grupların serum amilaz düzeyleri birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci gruplar için sırasıyla 740,63 ± 120,789 mU/L; 3354,63 ± 1790,452 mU/L ; 3188,88 ± 1496,067 mU/L; 3154,55 ± 1340,650 mU/L; 3618,88 ± 1413,521 mU/L olarak bulundu. Serum amilaz düzeyleri sham grubu ile karşılaştırıldığında diğer bütün gruplarda anlamlı olarak yüksekti ($p<0,01$). Diğer grupların amilaz düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı.

4.2. TNF-alfa ELISA Sonuçları

Grupların serum TNF-alfa düzeyleri 1,2,3,4 ve 5. gruplar için sırasıyla 0,65 ± 0,601 pg/mL; 32,8875 ± 11,9942 pg/mL; 39,8875 ± 8,5547 pg/mL; 28,5625 ± 11,07 pg/mL; 2,3625 ± 2,9105 pg/mL idi. İstatistiksel olarak sham grubu ile 2,3 ve 4. gruplar arasında anlamlı fark mevcuttu ($p<0,01$). Ayrıca serum TNF-alfanın ortalama değeri lavman grubunda probiyotik grubuna göre anlamlı biçimde yüksekti ($p=0,021$). Bunun dışında sham grubu ile probiyotik+lavman grubu arasında anlamlı fark gözlenmezken probiyotik+lavman grubunun ortalama TNF-alfa değeri tüm diğer gruplarınkine göre (sham grubu hariç) anlamlı biçimde

düşüktü (p<0,01). Kontrol grubu ile lavman grubu ve kontrol grubu ile probiyotik grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 7)(Grafik 1).

4.3.TNF-alfa'nın Pankreas Dokusundaki Ekspresyonu

TNF-alfa'nın pankreas dokusundaki ekspresyonu 1, 2, 3, 4 ve 5. gruplar için sırasıyla 2,7913 ± 0,7241 kopya/mL; 48,7875 ± 26,6738 kopya/mL; 12,7450 ± 11,1125 kopya/mL; 12,2137 ± 10,1825 kopya/mL; 11,7888 ± 13,7398 kopya/mL olarak bulundu. Kontrol grubunda TNF-alfa'nın pankreas dokusundaki ekspresyonu tüm diğer gruplara göre anlamlı biçimde yüksekti (p<0,05). Bunun dışında lavman grubundaki ekspresyon sham grubuna göre önemli biçimde yüksek bulundu (p<0,05). Grup 1 ve 4; 3 ve 4; 1 ve 5; 3 ve 5; 4 ve 5 arasında istatistiksel olarak önemli fark saptanmadı (Tablo 7)(Grafik 2).

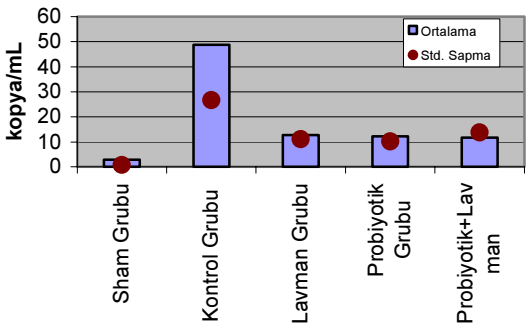
Tablo 7. Gruplara Göre Serum TNF-alfa Düzeyleri ve Doku TNF-alfa Ekspresyonları

	Sham Grubu	Kontrol Grubu	Lavman Grubu	Probiyotik Grubu	Probiyotik + Lavman Grubu
TNF-alfa serum düzeyi (pg/ml)	0,65 * ± 0,701	32,8875 * ± 11,9942	39,8875 * ± 8,5547	28,5625 * ± 11,07	2,3625 ± 2,9105
TNF-alfa doku ekspresyonu (kopya/ml)	2,7913** † ± 0,7241	48,7875 ** ± 26,6738	12,7450** † ± 11,1125	12,2137** ± 10,1825	11,7888** ± 13,7398

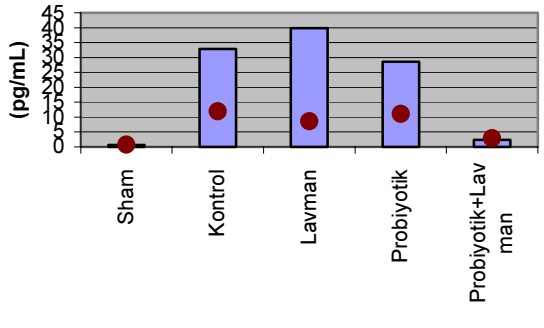
*: Grup1 ile 2,3,4. gruplarının serum TNF-alfa düzeyleri (p<0,01)

**: Grup 2 ile tüm diğer grupların doku TNF-alfa ekspresyon düzeyleri (p<0,05).

†: Grup 1 ile 3 arasında doku TNF-alfa ekspresyon düzeyleri (p<0,05).



Grafik 1. Grupların Serum TNF-alfa Düzeyleri



Grafik 2. Grupların Doku TNF-alfa Ekspresyon Düzeyleri

4.4. Mikrobiyolojik Değerlendirme Bulguları:

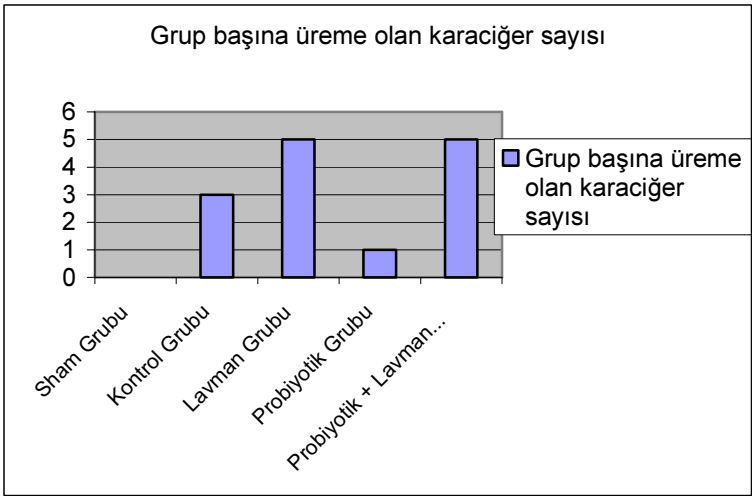
Deneklerin doku örneklerinin kültürlerindeki üremeler tablo 8'de ve grafik 3-7 'de özetlenmiştir. Dikkat çekici olarak lavman grubunda kontrol grubuna ve tüm diğer gruplara göre mezenterik lenf nodunda ve dalakta anlamlı sayıda fazla üreme olduğu gözlendi. Karaciğer ve dalakta da kontrol grubuna göre daha fazla sayıda üreme olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak önemli değildi. Probiyotik grubunda karaciğerde diğer bütün pankreatit gruplarına göre daha az üreme olmakla birlikte kontrol grubu ile olan fark diğer iki grupla olan farkın aksine anlamlı değildi. MLN üremeleri değerlendirildiğinde probiyotik grubu ile kontrol grubu ve probiyotik + lavman grubu arasında fark yoktu. Bununla birlikte 4. grupta pankreas dokularında hiç üreme olmadığı bulundu. Bu durum diğer pankreatit grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli fark oluşturuyordu. Ayrıca 4. grupta duodenum dokularında da hiç üreme olmadığı gözlendi.

Tablo 8. Gruplara Göre Organ Kültürlerindeki Üremeler.

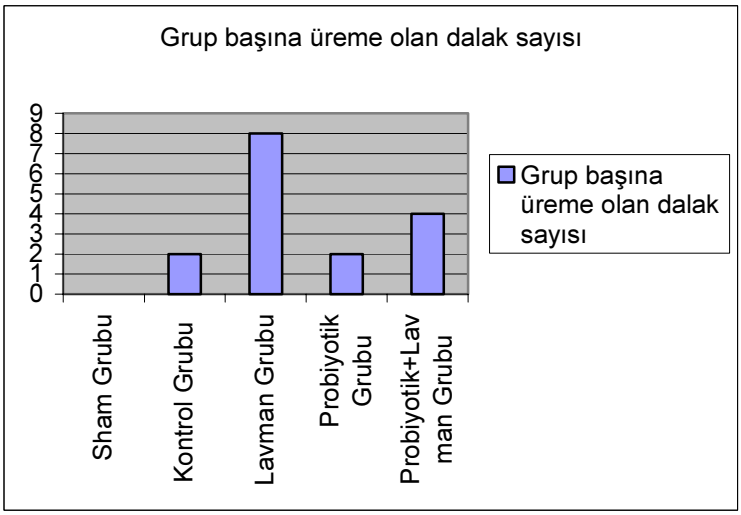
	1. grup	2. grup	3.grup	4. grup	5.grup	Toplam
Karaciğer	0	3 (%37,5)	5 (%62,5)	1 (%12,5)	5 (%62,5)	14 (%35)
Dalak	0	2 (%25)	8 (%100)	2 (%25)	4 (%50)	16 (%40)
MLN	0	4 %(50)	8 (%100)	4 (%50)	4 (%50)	20 (%50)
Pankreas	0	4 %(50)	5 (%62,5)	0	0 (%50)	13 (%32)
Duodenum	5 (%62,5)	7 (%87,5)	6 (%75)	0	0 (%37,5)	21 (%52,5)

Birinci grupla (sham grubu) üçüncü (lavman grubu) ve beşinci (probiyotik +lavman grubu) grupları arasında karaciğerdeki üreme açısından anlamlı fark vardı($p<0,05$). Karaciğerdeki üreme açısından üçüncü ve dördüncü (probiyotik grubu) gruplar arasında da anlamlı fark vardı($p<0,05$). Dalaktaki üreme açısından sham grubu ile üçüncü ve beşinci gruplar arasında anlamlı fark vardı($p<0,05$). Ayrıca üçüncü grupla ikinci ve dördüncü gruplar arasında da anlamlı fark vardı($p<0,05$). MLN'lerdeki üremeler açısından birinci grupla tüm diğer gruplar arasında anlamlı fark vardı($p<0,05$). Bunun dışında üçüncü grupta istatistiksel olarak anlamlı biçimde tüm diğer gruplardan fazla üreme oldu($p<0,05$). Pankreas dokularındaki üremeler karşılaştırıldığında sham grubu ile dört ve beşinci gruplar arasında fark yoktu. Bu gruplar ile iki ve üçüncü gruplar arasında anlamlı fark vardı($p<0,05$). Duodenumdaki üremeler açısından birinci, ikinci ve üçüncü gruplar arasında anlamlı fark yokken bütün bu gruplar ile grup dört ve beş arasında anlamlı fark vardı ($p<0,05$) (Tablo 8).

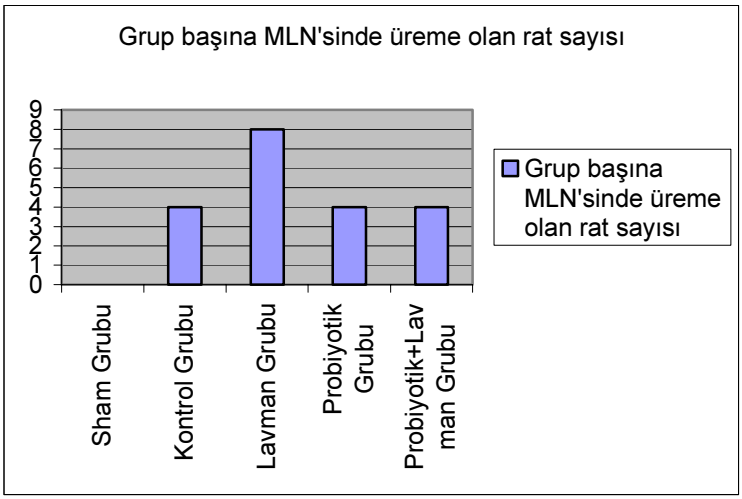
Kan kültürlerinde probiyotik + lavman grubunda tek bir üreme dışında hiçbir grupta hiçbir örnekte üreme olmadı. Bu üreme de kontaminasyon olarak kabul edildi.



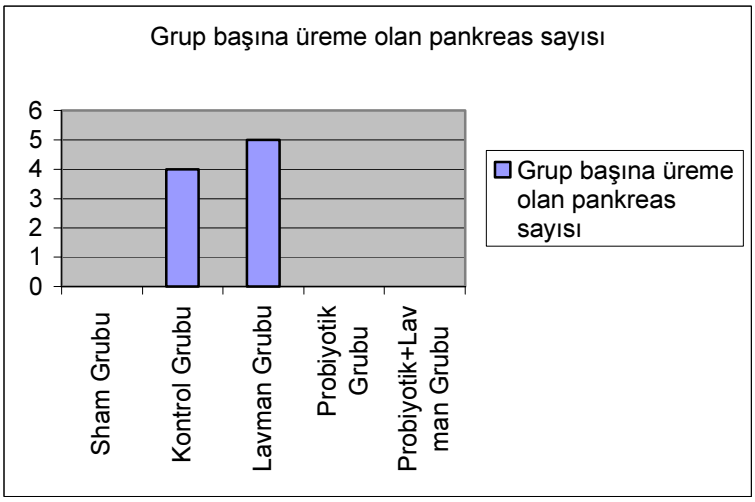
Grafik 3. Gruplara Göre Üreme Olan Karaciğer Sayıları



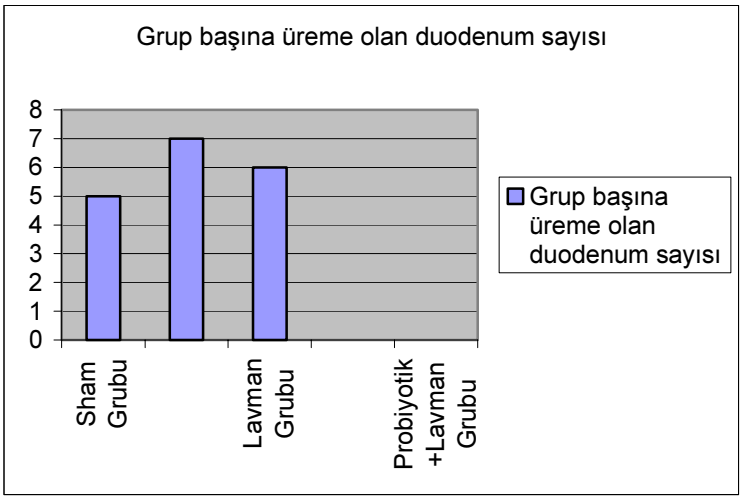
Grafik 4. Gruplara Göre Üreme Olan Dalak Sayısı



Grafik 5. Gruplara Göre MLN'sinde Üreme Olan Rat Sayısı



Grafik 6. Gruplara Göre Üreme Olan Pankreas Sayısı



Grafik 7. Gruplara Göre Üreme Olan Duodenum Sayısı.

Bütün gruplar birlikte incelendiğinde serum TNF-alfa düzeyleri ile mezenterik lenf nodu tutulumları arasında istatistiksel açıdan anlamlı orta derecede ilişki bulundu (p=0,015 ve korelasyon katsayısı=0,383). Bütün gruplar birlikte incelendiğinde doku TNF-alfa ekspresyonu ile pankreasta üreme olması arasında istatistiksel açıdan önemli orta derecede güçlü ilişki vardı (p<0,07 ve korelasyon katsayısı=0,418).

4.5. Histopatolojik İnceleme Bulguları:

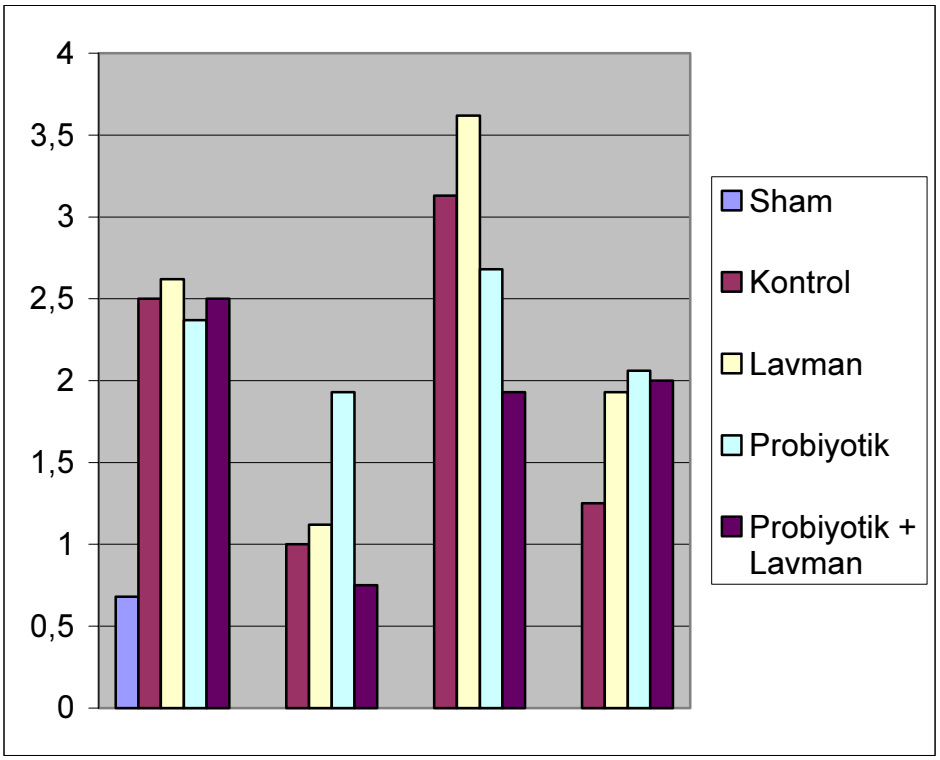
Yapılan histopatolojik inceleme sonucunda sham grubu ile bütün diğer gruplar arasında pankreatit skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Tablo 9)(Grafik 8). Kontrol grubu ile tedavi gruplarından hiçbiri arasında pankreatit skorları açısından anlamlı fark saptanmadı. Lavman grubunun pankreatit skorlarından enflamasyon skorunun probiyotik + lavman grubunun enflamasyon skoruna göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlendi. Ayrıca

probiyotik grubunun asiner nekroz skorunun probiyotik + lavman grubunun aynı skoruna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı (Tablo 9).

Tablo 9. Gruplardaki Pankreatit Şiddetleri

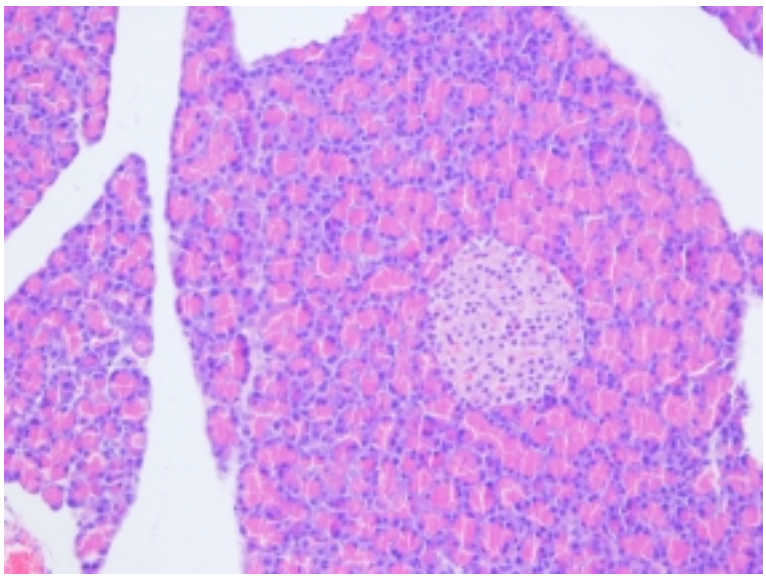
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Ödem	0,68 ± 0,25 [a]	2,5 ± 0 [a]	2,62 ± 0,23[a]	2,37 ± 0,44[a]	2,50 ± 0,53[a]
Asiner Nekroz	0 [a]	1 ±0,70 [a]	1,12 ± 0,64[a]	1,93 ± 1,14[a,d]	0,75 ± 0,37[a,d]
Enflama-tuar İnfiltrasyon ve Perivaskü-ler Enflamas-yon	0 [a]	3,13 ±0,70[a]	3,62 ± 0,69[a,c]	2,68 ± 1,30[a]	1,93 ± 1, 29[a,c]
Hemoraji ve Yağ Nekrozu	0 [a,b]	1,25 ±1,55[b]	1,93 ± 1,23[a]	2,06 ± 1,47[a]	2,00 ± 1,00[a]

a. p<0,01 (Grup 1 ile 2, 3 ,4 , 5. grupların karşılaştırması)
b. p<0,05 (Grup 1 ile 2. grubun karşılaştırılması)
c. p<0,05 (Grup 3 ve 5. grubun karşılaştırılması)
d. p<0,05 (Grup 4 ve 5'in karşılaştırılması)

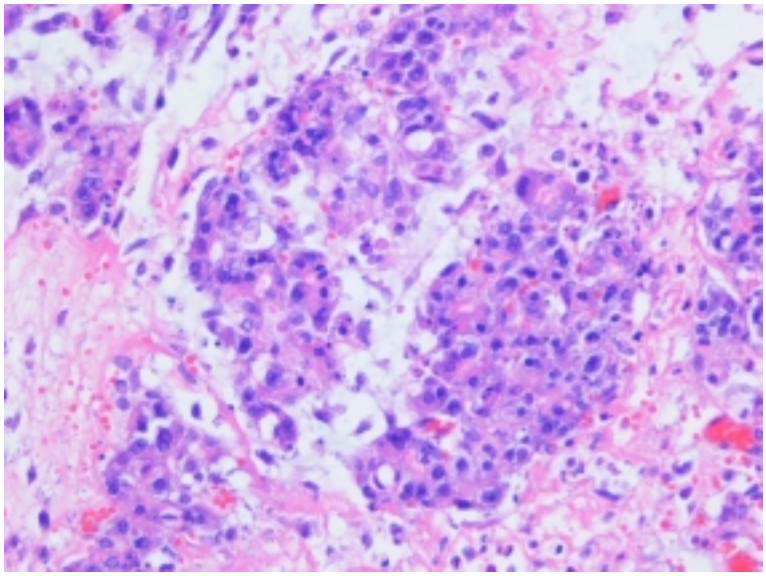


Grafik 8. Bütün Grupların Ödem Skroru, Asiner Nekroz Skoru, Enflamatuar İnfiltrasyon ve Perivasküler Enflamasyon Skoru ile Hemoraji ve Yağ Nekrozu Skorlarının Ortalama Değerleri

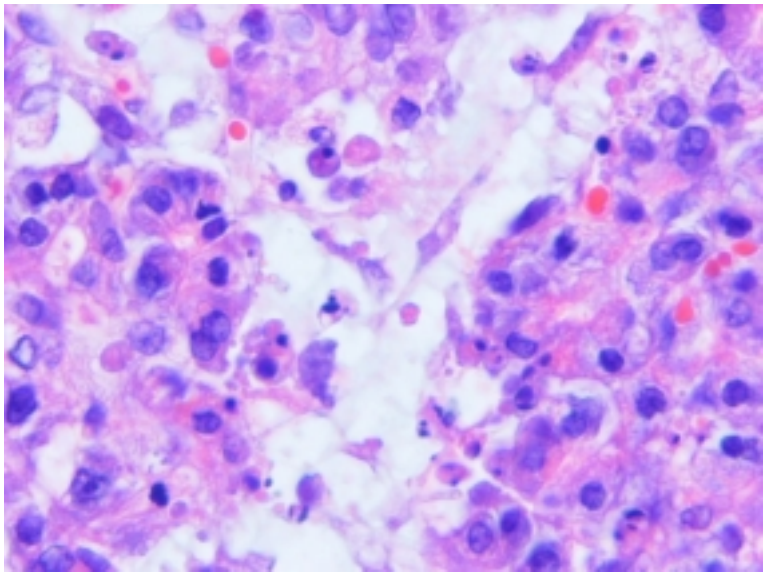
Bütün gruplar birlikte ele alındığında doku TNF-alfa ekspresyonları ile enflamasyon skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ve orta derecede güçlü ilişki saptandı ($p<0,05$ ve korelasyon katsayısı=0,331).



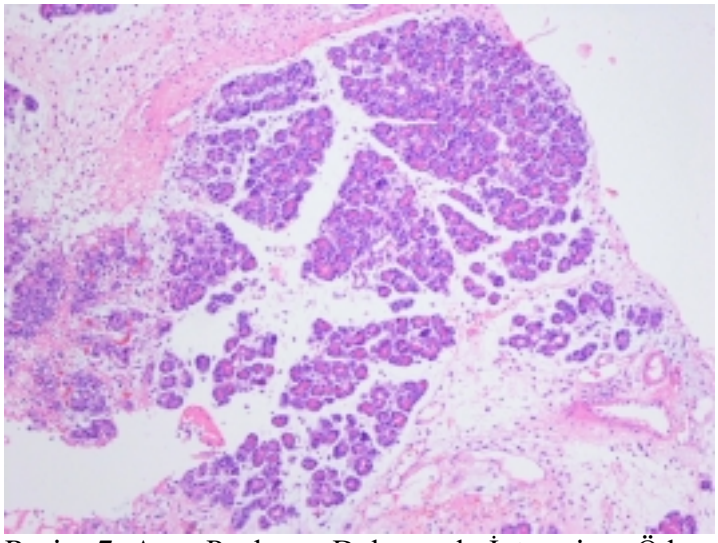
Resim 4. Sham Grubundan Bir Rata Ait Normal Görünümlü Pankreas Dokusunun 1x200'lük Büyütmede Görünümü



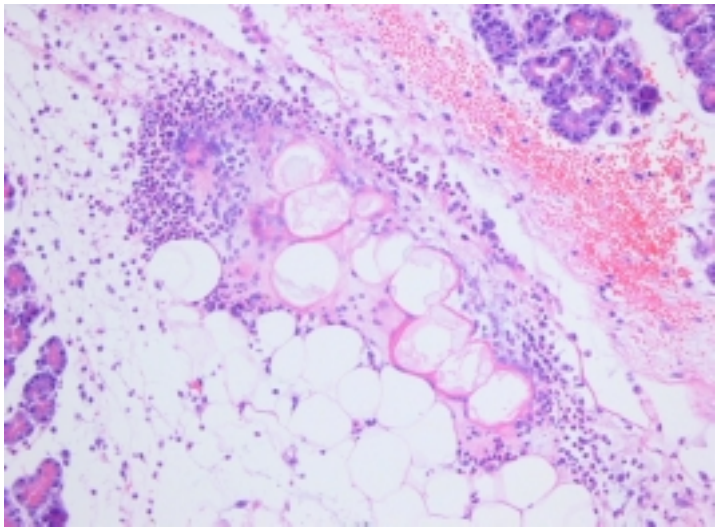
Resim 5. Kontrol Grubundaki Bir rata Ait Pankreas Dokusunda Asiner Nekroz Alanının 1x400'lük Büyütmede Görünümü



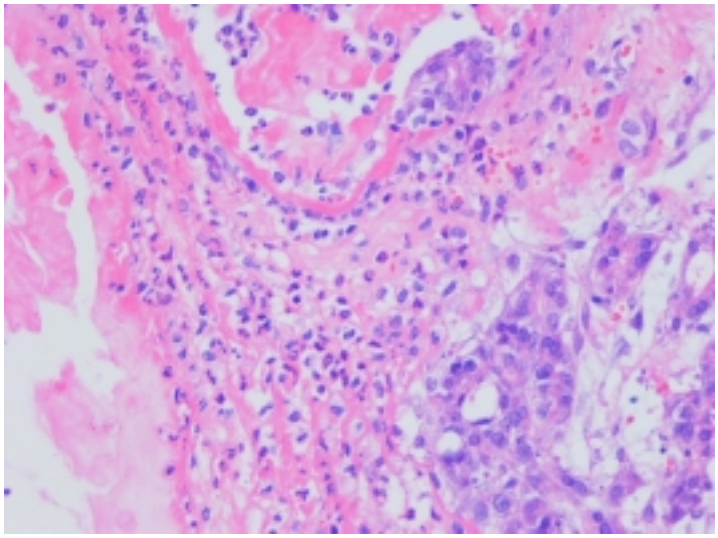
Resim 6. Aynı Alanın 1x1000'lik Büyütmede Görünümü



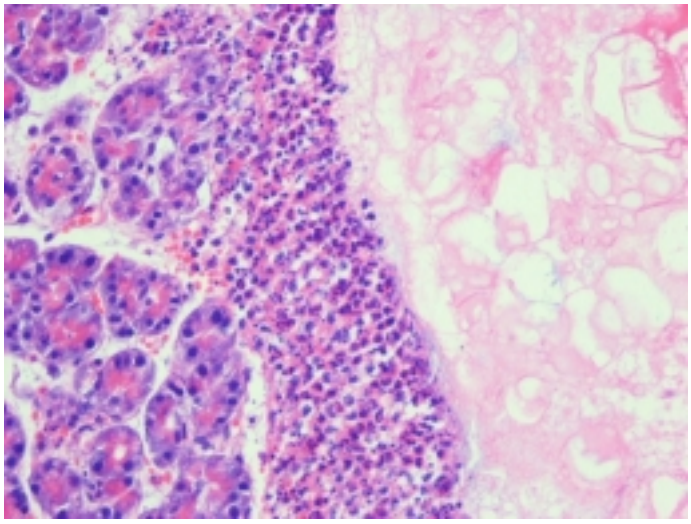
Resim 7. Aynı Pankreas Dokusunda İntraasiner Ödem Alanının1x200'lük Büyütmede Görünümü



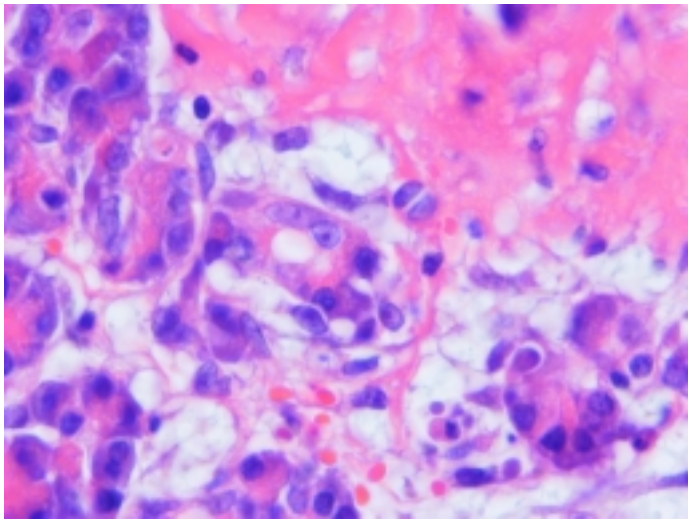
Resim 8. Aynı Pankreas Dokusunda Yağ Nekrozu Alanlarının 1x200'lük Büyütmede Görünümü



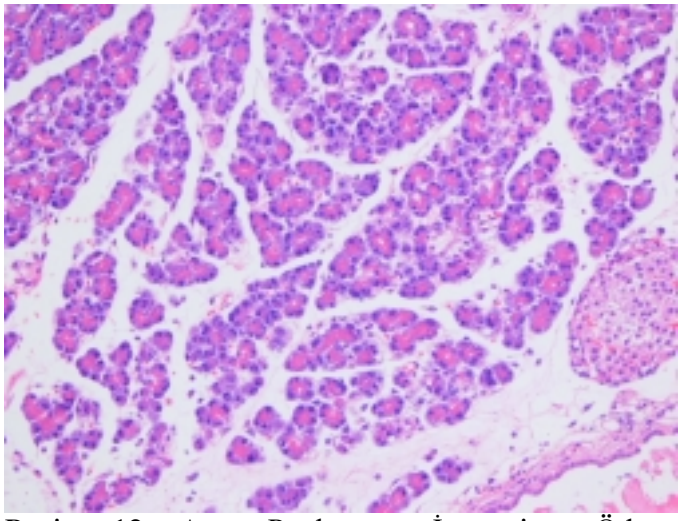
Resim 9. Aynı Pankreas Dokusunda Enflamasyon Alanının 1x200'lük Büyütmede Görünümü



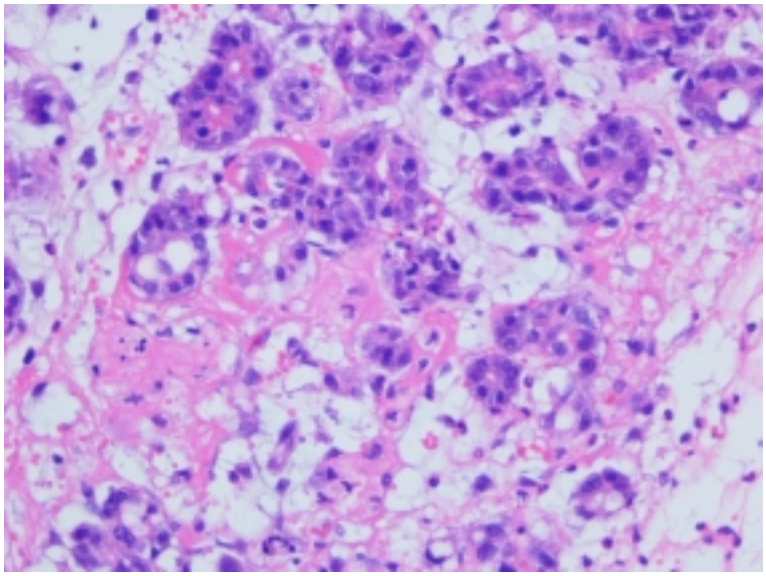
Resim 10. Lavman Grubundan Bir Ratın Pankreasında Yağ Nekrozu ve Enflamasyon Alanının 1x400'lük Büyütmede Görünümü



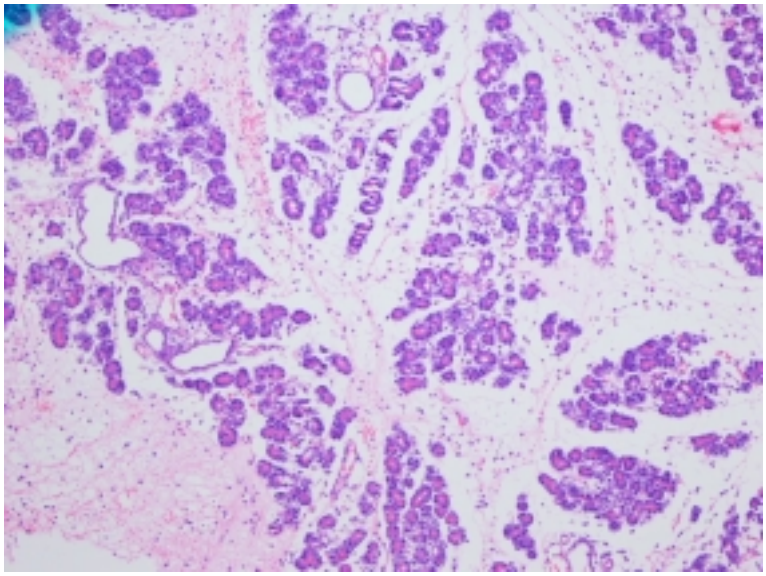
Resim 11. Aynı Pankreasta Asiner Nekroz Alanının 1x1000'lik Büyütmede Görünümü



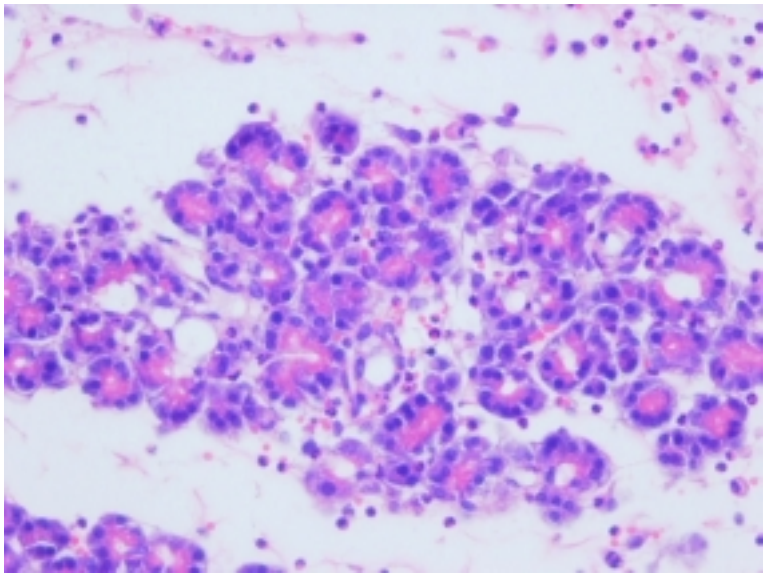
Resim 12. Aynı Pankreasta İntraasiner Ödem Alanının 1x200'lük Büyütmede Görünümü



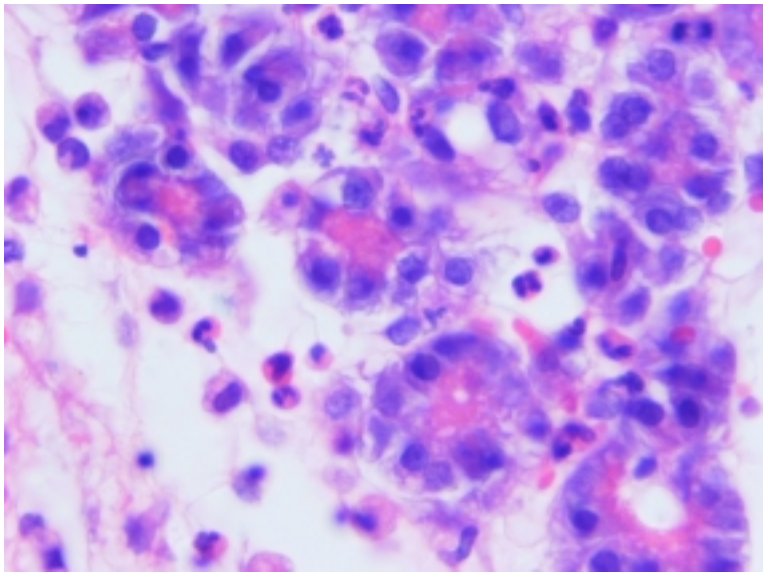
Resim 13. Probiyotik Grubundan Bir Deneğe Ait Pankreas Dokusunda Asiner Nekroz Alanının1x1000'lik Büyütmede Görünümü



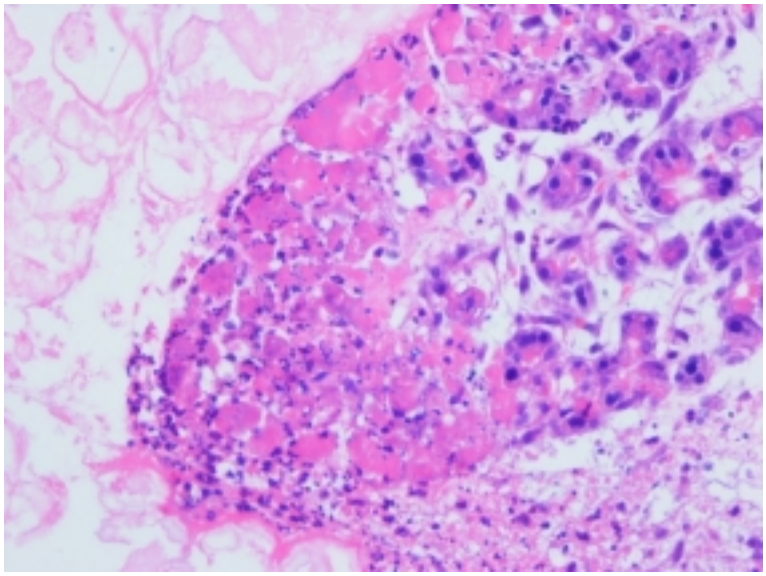
Resim 14. Aynı Pankreas Dokusunda Diffüz İnterasiner Ödem Alanının 1x100'lük Büyütmede Görünümü



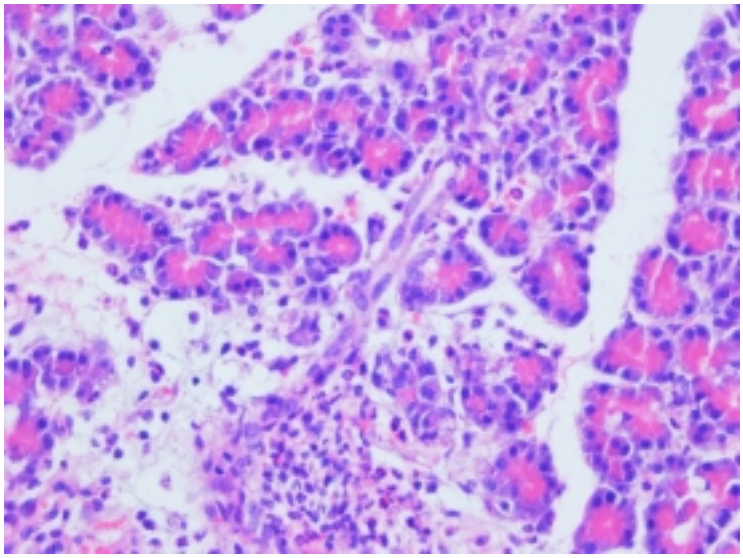
Resim 15. Aynı Pankreas Dokusunun 1x400'lük Büyütmede Görünümü



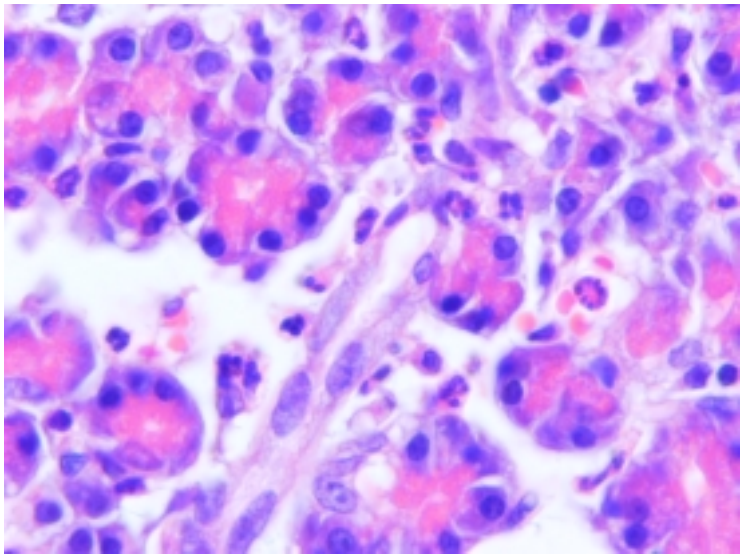
Resim 16. Aynı Alanın 1x1000'lik Büyütme ile Görünümü



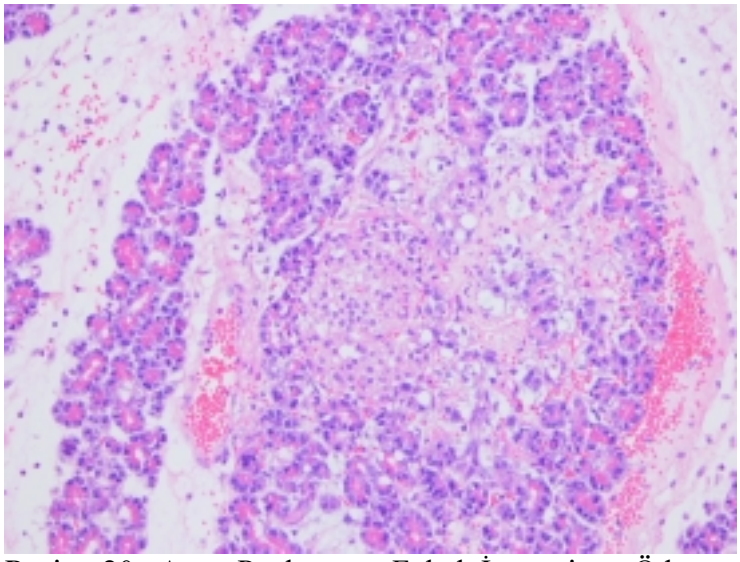
Resim 17. Probiyotik Grubundan Başka Bir Deneğin Pankreasında Yağ Nekrozu ve Asiner Nekrozun Birlikte Bulunduğu Bir Alanın 1x400'lük Büyütmede Görünümü



Resim 18. Probiyotik+Lavman Grubundan Bir Deneğe Ait Pankreas Dokusunda Perivasküler Enflamasyonun 1x400'lük Büyütme ile Görünümü



Resim 19. Aynı Alanın 1x1000'lik Büyütmede Görünümü



Resim 20. Aynı Pankreasta Fokal İnterasiner Ödem ve Asiner Nekroz Alanının 1x200'lük Büyütmede Görünümü.

5. TARTIŞMA

Akut pankreatit, başka organlara da yayılabilen lokalize enflamatuar bir hastalıktır (57). Bu hastalık cerrahinin önemli bir sorunu olmaya devam etmektedir ve akut abdominal cerrahi patolojiler arasında üçüncü sırayı almaktadır (58). Günümüzde hiçbir spesifik tedavinin bu hastalığın morbidite ve mortalitesini standart biçimde azalttığı gösterilememiştir (59). Pankreatitin akut nekrotizan pankreatit gibi ciddi formları ender görülse de %30-70 arasında raporlanan önemli mortalite oranlarına sahiptir (60). Ciddi akut pankreatit, genellikle glandüler nekrozla birliktelik gösterir ve başlıca geç komplikasyonu nekrozun enfeksiyonudur (61). Enfeksiyöz komplikasyonlar akut pankreatitte başlıca ölüm nedenidir (62). Pankreatik veya peripankreatik enfeksiyonun gelişimi akut respiratuar distres sendromu veya multiorgan yetmezliği gibi önemli sistemik komplikasyonları tetikleyen önemli bir lokal komplikasyondur. Pankreatik veya peripankreatik enfeksiyonun, ciddi pankreatitte %20-40 arasında görüldüğü raporlanmaktadır. Yakın zamana kadar akut pankreatitteki septik komplikasyonların kaynağı bir bilinmeyen olarak kalmıştır (5). Bir çok araştırmacı, kolondaki bakteri artışının engellenmesinin veya azalmış bakteri sayısının pankreatitin septik komplikasyonlarını azaltabileceğini öne sürmüşlerdir (63-65).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Şahin ve ark. (5) deneysel olarak akut pankreatit oluşturulmuş iki rat grubundan birinde kolonik florayı enema uygulayarak seyreltmeye çalışılmışlar ve enema uygulanan grupta bakteriyel translokasyonda istatistiksel olarak önemli azalma olduğunu saptamışlardır. Bizim

çalışmamızda pankreatit yapılan gruplar arasında en fazla bakteriyel translokasyon, laparotomi sonrası 6. ve 24. saatlerde lavman uygulanan grupta gözlenmiştir. Bu sonuçlar, yukarıda sözü edilen çalışmanın sonuçları ile uyuşmamaktadır. Bizim çalışmamızda lavman grubunda kontrol grubuna ve tüm diğer gruplara göre mezenterik lenf nodunda ve dalakta anlamlı sayıda fazla üreme olmuştur. Karaciğer ve dalakta da kontrol grubuna göre daha fazla sayıda üreme olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak önemli değildir. Ayrıca kontrol grubunda 48 saatte hiç mortalite olmamasına rağmen 3. gruptaki ratlardan 2 tanesinin çalışma sırasında kaybedildiği (%25 mortalite) de unutulmamalıdır. Bu ratların yerine yeni ratlar konarak grup sayısı yeniden 8'e tamamlanmıştır. Denekler gece saatlerinde ölmüş olduğundan ölüm nedeni tam olarak ortaya konulamamış; ama yapılan otopside organ bütünlüklerinin bozulmamış olduğu gözlenmiş ve bu yüzden mortalitenin teknik hataya bağlı olmadığına karar verilmiştir. Bizim bulgularımız göz önüne alınırsa pankreatitte lavmanın septik komplikasyonları azaltmadığı; aksine arttırabildiği söylenebilir.

Başka araştırmacılar akut pankreatitteki pankreatik veya peripankreatik enfeksiyonun; ince barsaktaki bakteriyel çoğalmayla, mukozal bariyerin bozulmasıyla ve intestinal bakterilerin translokasyonuna yol açan proenflamatuar yanıtla başlayan bir olaylar kaskadının sonucu olduğunu düşünmüşlerdir (66-68). Bakteriyel translokasyon, patojen canlı bakterilerin gastrointestinal traktustan mezenterik lenf nodlarına ve diğer organlara geçerek septik komplikasyonlara yol açmasıdır (69). Barsak bariyeri, ciddi akut pankreatitte önemli bir rol oynamaktadır. Barsak bariyerinin bütünlüğü hastayı atrofik ve sızdıran bir

barsağın sonucu olan bakteriyel translokasyondan korur ve pankreatitteki barsak atrofisinin sonucu olan sistemik enflamatuar sendromu azaltır. Bu yüzden ciddi akut pankreatitin tedavisinde barsak bariyerinin bütünlüğünün korunması önemli hedeflerden biridir. Bu nedenden dolayı enteral nütrisyonun barsağın açlığa bağlı morfolojik değişikliklerinin önüne geçilmesi ve bu değişikliklerin düzeltilmesi için bir tedavi seçeneği olabileceği öne sürülmüştür. Daha yakın zamanda, nekrozun intestinal bakterilerle enfeksiyonunu azaltmak için probiyotik kullanılması önerilmiştir (61).

Probiyotikler, konakçının endojen florasında olumlu değişiklikler yaparak ona yarar sağlayan bir kültürden ya da karışık kültürlerden oluşan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanırlar. Probiyotikler, bundan birkaç yıl öncesine kadar alternatif tıp içinde değerlendirilirken günümüzde ise tıbbi uygulamada yer almaya başlamışlardır (70). Değişik hayvan modelleri probiyotiklerin kullanımının bakteriyel translokasyonda önemli ölçüde azalma sağladığını ortaya koymuştur (7). Van Minen ve arkadaşlarının (71) yaptığı deneysel bir çalışmada akut pankreatit oluşturulan ratlarda multipl ajanlardan oluşan bir probiyotik kombinasyonunun uygulanmasının; E. coli gibi patojen mikroorganizmaların duodenumdaki çoğalmasını azalttığı, pankreas da dahil olmak üzere uzak organlara bakteriyel translokasyonu azalttığı, klinik gidişi düzelttiği ve geç mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre yalnızca probiyotikle tedavi edilen pankreatit grubu (dördüncü grup) ile kontrol grubu (ikinci grup) karşılaştırıldığında MLN'lerde ve dalak dokularında meydana gelen üreme

açısından fark yoktu (her iki grup için de sırasıyla 4/8 ve 2/8). Karaciğer dokularında dördüncü grupta kontrol grubuna göre daha az üreme olmasına rağmen (dördüncü grup için 1/8 ve 2. grup için 3/8) bu fark istatistiksel açıdan anlamsızdı. Bununla birlikte, dördüncü grupta ve probiyotik + lavman verilen beşinci grupta hiçbir pankreas dokusunda ve hiçbir duodenum dokusunda üreme olmadı ve hem kontrol hem de lavman grubu ile karşılaştırıldığında bu fark anlamlı bulundu. Biz bu çalışmada beşinci grupta duodenum ve pankreas dokularında üreme olmamasının nedenini tedavide kullanılan probiyotik bileşenine bağlı olduğunu düşünüyoruz. Pankreatik nekrozun enfeksiyonunun pankreatitin morbidite ve mortalitesi ile güçlü bir biçimde ilişkili olduğu düşünüldüğünde bu bulguların anlamı belirginleşecektir (72). Günümüzde akut pankreatitteki pankreatik enfeksiyonun patogenezi hala tam anlaşılamamıştır (73). Bizim elde ettiğimiz bulgular şiddetli akut pankreatitteki bakteriyel translokasyonun her zaman barsaklardan mezenterik lenf nodlarına, buradan da pankreasa gerçekleşmeyebileceğini; duodenumdan doğrudan komşu pankreas dokusuna da translokasyon olabileceğini ve probiyotiklerin pankreatitteki kullanımının bu translokasyonu engellediğini düşündürmektedir.

Ülkemizde yapılan deneysel bir çalışmada akut pankreatit yapılarak enteral beslenme ile birlikte probiyotik uygulanan ratlarda akut pankreatit yapıldıktan sonra yalnızca enteral beslenme verilen ratlara göre fibrozis, asiner hücre kaybı, ödem, parenkimal nekroz, mononükleer lökosit infiltrasyonu, duktal hasar ve atipik reaktif rejenerasyonun ortalama skorları istatistiksel olarak önemli ölçüde daha az bulunmuştur. Bu şekilde probiotiklerin enteral beslenmeye eklenmesinin

pankreatitin şiddetini azaltabildiği gösterilmiştir (74). Şahin ve ark. da (60) yaptıkları çalışmada akut nekrotizan pankreatit (ANP) oluşturdukları 2 gruptan birindeki ratlara Saccharomyces boulardii vermişlerdir. Bu çalışmada histopatolojik incelemede probiyotik ile tedavi edilen ANP'li rat grubunda probiyotik verilmeyen ANP'li gruba göre morfolojik skorların istatistiksel olarak önemli biçimde daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızdaki bulgular bu sonuçlarla çelişmektedir. Bizim incelememiz sonucunda tedavi gruplarından hiçbirinin morfolojik skorları ile kontrol grubunun morfolojik skorları arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Probiyotiklerin akut pankreatitteki tedavi edici etkisi üzerine bazı klinik çalışmalar da yapılmıştır. Macaristan'da sınırlı sayıda hastada yapılan bir çalışmada Lactobacillus plantarum'un nazojejunal tüpten verilmesinin pankreatik sepsisi ve pankreatik hasarla ilişkili cerrahi girişimleri azalttığı gösterilmiştir (75). Hollanda'da bu konuda çok sayıda hasta üzerinde (probiyotik grubunda 152 hasta ve plasebo grubunda 144 hasta) çok merkezli olarak yürütülen bir çalışmanın yakın zamanda açıklanan sonuçları ise daha önceden yapılmış olan deneysel ve klinik çalışmalarla çelişmektedir. Bu çalışmada 6 adet suştan oluşan (Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Lactobacillus salivarius, Lactococcus lactis, Bifidobacterium bifidum ve Bifidobacterium lactis) bir probiotik ajan, ağır seyir beklenen pankreatitli hastalara uygulanmış; ama probiotik verilen grupta kontrol grubuna göre enfeksiyöz komplikasyonların gelişim riskini azaltmadığı gibi istatistiksel olarak önemli oranda fazla mortalite gözlenmiştir (probiotik grubunda %16 ve plasebo grubunda %6). Probiotik

grubundaki hastalardan 9'unda (%6) barsak iskemisi saptanmış ve bu hastalardan 8'i ölmüştür. Bu hastalardan 6'sının vazopresör tedavi almakta olduğu bildirilmiş; bunların otopsisinde 5 hastada mezenterik damarlarda oklüziv hastalık olmadığı saptanmıştır. Yazarlar, barsak iskemisinin nedenlerini tam olarak açıklayamamış; ancak bazı spekülasyonlarda bulunmuşlardır. Akut pankreatitte intestinal kan akımının mukozal düzeyde genellikle azalmış olduğunu gösteren deliller vardır. Yazarlar, kan akımının kritik düzeyde azalmış olduğu barsağa günde 10 milyar probiyotik bakterisinin verilmesinin oksijen ihtiyacını iyice arttırmak yoluyla bu duruma yol açmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Sözkonusu çalışmanın yazarlarına göre olası ikinci bir mekanizma, ince barsaktaki bakteriyel yükün arttırılmasının metabolik stres altındaki barsak epitel hücrelerinde enflamatuar yanıta neden olması ve lokal enflamasyonun kapiller kan akımında azalma ve iskemiye neden olmasıdır (76). Bu klinik çalışmada ortaya çıkan beklenmedik sonuçların kullanılan probiyotik kombinasyonu ile ilişkili olma ihtimalini göz ardı etmemek gerektiği kanısındayız; çünkü bu probiyotik kombinasyonu daha önce hiçbir klinik çalışmada kullanılmamıştır. Bununla birlikte bu kombinasyon daha önce ratlarda oluşturulan deneysel akut pankreatitte kullanıldığında hem enfeksiyöz komplikasyonlarda hem de geç mortalitede anlamlı azalma gözlenmiştir; ancak bu deneysel çalışmada bu probiyotik kombinasyonunun uygulanmasına pankreatit indüksiyonundan 5 gün önce başlanmıştır (71). Her ne olursa olsun birbiriyle çelişen sonuçlar probiyotiklerin akut pankraetitte kullanımı ile ilgili bilgimizin hala yetersiz olduğunu ve klinik çalışmalarda probiyotikler kullanılırken temkinli olunması gerektiğini göstermektedir.

Bizim çalışmamızda kullandığımız Saccharomyces boulardii, patojen olmayan bir maya olup alışılmışın dışında olarak optimal büyüme sıcaklığı 37 derece santigraddır. Gastrik asiditeye ve proteolize dayanıklıdır. Gastrointestinal sistemde kısa zamanda yüksek konsantrasyonlara ulaşarak canlı formda sebat eder. Kolonik mukozayı kalıcı olarak kolonize etmez ve intestinal kanalın dışında yaşamaz (77). Akut ve kronik enterokolopatilerde, gastrointestinal mikroflora bozukluklarında, çocuklardaki enzim eksikliklerinde, enflamatuar barsak hastalığı ve allerjik enterokolopatilerde etkin olarak kullanılmaktadır (78). Bu nedenlerden ve kolay erişilebilir ve ucuz olmasından dolayı biz de kendi çalışmamızda probiyotik olarak Saccharomyces boulardii kullanmayı tercih ettik.

TNF-alfa, enfeksiyon ve enflamasyon da dahil olmak üzere bir çok hastalık durumunda akut enflamatuar yanıtın majör mediatörlerinden biridir (79, 80). Farklı etkileri olan bu sitokin diğer proenflamatuar sitokinlerin ve lökosit adhezyon moleküllerinin anahtar düzenleyicisi ve immün hücrelerin aktivatörüdür. Son yıllarda çalışmalar TNF-alfa'nın akut pankreatitin patogenezinde önemli rol oynadığını ileri sürmüştür. TNF-alfa özellikle, enflamatuar yanıtın sistemik progresyonuna ve şiddetli hastalıkta gözlenen son organ disfonksiyonuna katılmaktadır (11). Akut pankreatit sırasında TNF-alfa serum düzeyleri yükselmektedir (81, 82). Hastalığın seyri sırasında TNF-alfa, IL-1 ve IL-6'nın plazma düzeylerindeki yükselme erken dönemde görülmektedir ve bunlar hastalığın şiddeti ile ilişkilidir. Ayrıca enflamatuar mediatörlerin yüksek düzeyleri SIRS'in ateşlenmesinden sorumludur (83). Günümüzde akut pankreatitte TNF-alfa ile ilgili uygulamalar, hastalığın şiddetinin öngörülmesi ve

MOF ve septik şok gibi komplikasyonları geliştirmeye yatkın bireylerin belirlenmesi için kan konsantrasyonlarının ölçülmesini içermektedir (11).

TNF-alfanın ana kaynağı monosit-makrofaj kökenli hücreler olsa da TNF-alfa'nın aynı zamanda adipoz dokuda, insan kasında, endotoksin tarafından uyarılmış myokard dokusunda, IL-1 ile uyarılan β hücrelerinde, astrositlerde, keratinositlerde, mast hücrelerinde, T ve B hücrelerinde de eksprese olduğu bildirilmiştir (83,84). Gukovskaya ve ark. tarafından 1992'de yayınlanan çalışmada (84) pankreasın sekretuar asiner hücrelerinin de TNF-alfa sentezleyip sekrete ettiği ve aynı zamanda akut pankreatit sırasında TNF-alfa reseptörlerini eksprese ettiği gösterilmiştir. TNF-alfa'nın pankreastaki sentez ve salınımı pankreastaki makrofajlar tarafından da gerçekleştirilir (84,85). Pankreatik asiner hücrelerden salınan TNF-alfa'nın inflamatuar infiltrasyondan önceki erken evrelere aracılık ederek pankreatit gelişmesine katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür (84).

Yakın zamanda TNF-alfa'nın akut pankreatit tedavisinde yeni bir hedef olabileceği gösterilmiştir (86). Malleo ve ark. (86) farelerde gerçekleştirdikleri bir deneysel çalışmada ANP oluşturdukları denekler üzerinde yeni bir anti-TNF-alfa ajanı olan Etanercept'i denediklerinde pankretit histolojik özelliklerinin, amilaz, lipaz, pankreas sıvı içeriğinin ve myeloperoksidaz aktivitesinin Etanercept ile tedavi edilen grupta kontrol grubuna göre azaldığını göstermişlerdir. Oruç ve ark. (87) ratlar üzerinde yaptıkları deneysel bir çalışmada akut ödematöz pankreatitte bir monoklonal TNF antikoru olan infliximab'ın kullanımının serum amilaz aktivitesini ve histopatolojik skoru istatistiksel olarak anlamlı biçimde azalttığını

göstermişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ANP indüksiyonu yapılan farelere Thalidomid verildiğinde farelerdeki pankreatit histopatolojik özelliklerinin, amilaz, lipaz, TNF-alfa, IL-1 beta düzeylerinin belirgin azalma gösterdiği saptanmıştır (88). Deneysel çalışmalardaki ümit verici sonuçlara rağmen bugüne kadar tek bir olgu sunumu dışında akut pankreatitte TNF-alfayı hedef alan hiç çalışma yayınlanmamıştır. Bu olgu sunumunda interstisyel pankreatit gelişen bir hastaya İnfliximab verilmiş ve hasta fayda görmüştür (89). Bu ümit verici sonuçlara rağmen akut pankreatit sırasında spesifik TNF-alfa inhibisyonunun bakteriyel enfeksiyon riskini arttırma ihtimali unutulmamalıdır (57).

Biz, çalışmamızda pankreas dokusundaki TNF-alfa ekspresyonunun hastalığın patogenezindeki rolünü göz önüne alarak pankreas dokusundaki TNF-alfa ekspresyonunu çalıştığımız parametreler arasına kattık. Sonuçlarımıza göre akut pankreatit indüksiyonu yapılarak hiçbir tedavi uygulanmayan kontrol grubunda TNF-alfa doku ekspresyonları tüm diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek saptandı. Akut pankreatit indüksiyonu sonrası lavman, probiyotik ve probiyotik+lavman tedavisi uygulanan 3 tedavi grubunda ise dokudaki TNF-alfa ekspresyonu sham grubuna göre belirgin olarak fazla çıkmasına rağmen bu fark yalnızca lavman grubu için anlamlıydı. Bu sonuçlar, uygulanan bütün tedavilerin bir şekilde TNF-alfanın pankreastaki üretimini engellediğini göstermektedir. Eldeki verilerle bu durumun hangi mekanizma ile gerçekleştiğini söylemek mümkün değildir. T84 hücrelerininin kullanıldığı invitro bir çalışmada Saccharomyces boulardii kullanılmasının enterohemorajik E. coli ile enfekte olmuş hücrelerde TNF-alfa transkripsiyonunu azalttığı gösterilmiştir

(90). Probiyotik ve probiyotik+lavman grupları için benzer bir mekanizma öne sürülebilir; ancak S. boulardii'nin barsak dışına çıkmadığı ve pankreas dokusuna hiç ulaşmadığı unutulmamalıdır. Bütün gruplar birlikte değerlendirildiğinde TNF-alfanın doku ekspresyonunun histopatolojik enflamasyon skoru ile arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunması ve bu ilişkinin diğer patolojik skorlar için söz konusu olmaması; tedavi gruplarındaki ekspresyon azalmasının pankreastaki enflamatuar infiltrasyondaki azalmaya bağlı olduğunu düşündürtmektedir. Bununla birlikte kontrol grubu ile tedavi grupları arasında histopatolojik enflamasyon skoru açısından fark olmaması bu düşünceyi desteklememektedir. Bulgularımıza göre yine bütün denekler birlikte değerlendirildirildiğinde doku TNF-alfa düzeyleri ile pankreas dokularındaki bakteri üremeleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Bilindiği gibi lipopolisakkaridler, lipoteikoik asit, bakteriyel DNA ve daha bir çok mikrobial faktör TNF-alfa salınımını stimüle etmektedir (8). Bu yüzden bakteriyel infiltrasyonun pankreas dokusundan TNF-alfa salınımını stimüle ettiği ve uygulanan tedavilerin bu stimülasyonu baskıladığı düşünülebilir. Bu durum probiyotik ve probiyotik+lavman grupları için doğru olabilir; çünkü bu grupta pankreas dokularında üreme olmamıştır. Bununla birlikte lavman grubunda pankreas dokusunda kontrol grubu hariç bütün gruplara göre anlamlı biçimde fazla üreme olmuştur ve bu yüzden en azından bu grup için doku TNF-alfa düzeyinin kontrol grubuna göre düşük olması bu mekanizma ile açıklanamaz.

Serum TNF düzeylerini incelediğimizde kontrol grubunun serum düzeyleri ile lavman ve probiyotik gruplarının serum düzeyleri arasında anlamlı fark

olmadığını gördük. Bu üç grubun da serum TNF düzeyleri sham grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti. Probiyotik + Lavman grubunun serum düzeylerinin ise sham grubuna göre anlamlı farkı yokken bütün pankreatit gruplarına göre TNF-alfa düzeyleri anlamlı düzeyde daha düşüktü. Bu sonuç açıklanmayı beklemektedir.

Bugüne kadar bir çok çalışmada akut pankreatitte probiyotiklerin bakteriyel translokasyona ve/veya pankreatitin histopatolojik şiddetine, mortalite üzerine olan etkileri çalışılmıştır (60,71, 74,76). Bir çok diğer çalışma da TNF-alfanın pankreatitteki rolü üzerinde durmuştur (84,85,11). Bununla birlikte literatürde probiyotiklerin akut pankreatitteki kullanımının TNF-alfanın kan düzeyleri ve doku ekspresyonları üzerine etkisini araştıran bir çalışma yoktur. Biz kendi çalışmamızda bu ilişkiyi araştırma amacı güttük. Sonuçlarımız, probiyotik verdiğimiz deneklerde (grup 4 ve 5) kontrol grubuyla karşılaştırılınca serum TNF-alfa düzeylerinde düşme olmadığını; ama tedavinin doku TNF-alfa ekspresyonları üzerinde düşüşe neden olduğunu göstermektedir. Aynı etkinin probiyotik verilmeyen, yalnız lavmanla tedavi edilen 2. grupta da gözlenmesi dikkat çekicidir. Bu durum, TNF-alfa doku ekspresyonları üzerindeki etkinin probyotiklere özgü olmayan bir mekanizma ile meydana geldiğini düşündürtmektedir. Ulaştığımız sonuçlar TNF-alfanın pankreatitteki yerinin ve probiyotiklerin TNF-alfa ekspresyon ve salınımı üzerine etkisinin düşündüğümüzden daha karmaşık olabileceğini göstermektedir. Uomo'nun akut pankreatitte probiyotik kullanımı ile ilgili yazdığı bir yazısının başlığında

belirttiği gibi: “Probiyotikler ve Akut Pankreatit: Hala Alınacak Çok Yol Var!” (7).

Akut pankreatitli hastaların yalnızca %20’lik bir kesimi ŞAP ile başvursa da SIRS, MOF ve kimi zaman ölüm gerçekleşen hastalar bu gruptakilerdir (91). Bu yüzden biz de kendi deneyimizde nekrotizan pankreatit oluşturan bir yöntem kullanmayı tercih ettik. Başlangıçta deneklerin sakrifiye edilmesinden önce laparotomi yapılmasını gerektirmeyen ve bu şekilde intraabdominal kontaminasyon ve mortalite riskini olabildiğince düşük tutacağını düşündüğümüz bir yöntem uygulamaya karar verdik. Böyle bir yöntem için literatürü araştırdığımızda Mizunuma ve arkadaşlarının 1984’te (48) tanımladığı yöntemi bulduk. Bu araştırmacılar, intraperitoneal 500mg/100 g L-arginin enjeksiyonu ile pankreas dokusundaki değişiklikleri göstermişti. Bundan sonra da bir çok araştırmacı, yüksek doz intraperitoneal L-arginine enjeksiyonu ile eksperimental nekrotizan pankreatit oluşturduklarını yazmıştır (49). Müftüoğlu ve ark. da (74) probiotiklerle ilgili araştırmalarında akut pankreatit indüksiyonu için bu yöntemi kullanmış olduklarını gördük. Ne var ki biz bu yöntemi denediğimizde önerilen L-arginin dozunun yarısının bile ratlara intraperitoneal olarak uygulanmasının deneğin birkaç saat içinde ölmesine neden olduğunu gözlemledik. Bu şekilde bir çok denek yitirdikten sonra bu yöntemin çalışmamız için uygun olmadığına karar verdik. Bunun üzerine daha önce de bir çok çalışmada kullanılmış olan “biliopankreatik duktusa taurokolat infüzyonu” yöntemini benimsedik (51,52). Bu yöntemin mortalitesinin oldukça yüksek olarak (ilk 24 saatte %60) tarif edilmiş olmasına rağmen bizim toplam mortalitemiz %10 olarak gerçekleşti (51,

52). Mortalitenin yalnızca lavman uygulanmış deneklerde gerçekleşmiş olması bize bu mortalitenin pankreatit indüksiyonu için seçtiğimiz yönteme değil; lavman uygulamasına bağlı olduğu fikrini verdi. Biliopankreatik duktusa taurokolat verdiğimiz bütün ratlardan ötenazi uygulanması sırasında aldığımız kanda çalışılan amilaz değerlerinin sham grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak yükselmiş olduğunu ve dört pankreatit grubunun da ortalama amilaz değerlerinin sham grubunun ortalama amilaz değerine göre anlamlı olarak yükselmiş olduğunu gözlemledik. Akut pankreatit gruplarının tamamında da sham grubuna göre histopatolojik skorlar belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek çıktı. Bu şekilde bu tekniği başarıyla uyguladığımızı gördük. Ayrıca sham grubundaki hiçbir denekte karın içi organlardan hiçbirinde (duodenum hariç) üreme olmaması, çalışma koşullarımızda steriliteye yeteri kadar dikkat etmiş olduğumuzu ve pankreatit indüksiyonu için laparotomi yapmamızın karın içi kontaminasyona ve sonuçlarımızda değişikliğe neden olmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak, akut pankreatitin enfeksiyöz komplikasyonlarının tedavisinde boşaltıcı lavman sınırlı bir laboratuar iyileşme sağlasa da (TNF-alfanın pankreas dokusundaki ekspresyonunda azalmaya neden olması) klinik düzeyde iyileştirici etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Bunun yanısıra, istatistiksel olarak gruplar tek tek değerlendirildiğinde anlamlı olmamakla birlikte bütün mortaliteler lavman uygulanan gruplarda gerçekleşmiştir. Ayrıca yalnız başına lavma uygulanan grupta MLN'lerde bütün diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde fazla üreme gerçekleşmiştir (8/8). Lavmanın pankreas dokusundaki TNF-alfa ekspresyon düzeylerini hangi mekanizma ile düşürdüğü

anlaşılamamıştır. Yapılacak yeni çalışmalarla bunun aydınlatılmasının gerektiği düşünülmektedir. Yine bulgularımıza göre enfeksiyöz komplikasyonların önlenmesinde probiyotik ajan S. boulardii'nin pankreas dokusundaki TNF-alfa düzeylerini azaltması açısından laboratuar iyileşme sağladığı söylenebilir. Bunun dışında sonuçlarımız bu probiyotik ajanın akut pankreatitte anti-enfeksiyöz etkide bulunabildiğini desteklemektedir. Çünkü probiyotik verilen iki grupta da MLN'lerdeki üremelerde kontrol grubuna göre anlamlı istatistiksel fark olmadığı halde her iki grupta da pankreas dokularında hiç üreme olmamıştır. Probiotik ajan S. Boulardii'nin akut pankreatit tedavisinde ümit verici bir ajan olan TNF-alfa monoklonal antikoru İnfliximab'ın serumdaki TNF-alfa düzeyine etkisine benzer şekilde; fakat dokudaki TNF-alfa ekspresyon düzeyleri üzerinden akut pankreatit tedavisinde yararlı olabileceği düşünülebilir.

Özet olarak bu çalışmamızın sonucunda akut pankreatitin enfeksiyöz komplikasyonlarının tedavisinde boşaltıcı lavmanın bakteriyel translokasyonu önlemediği; aksine arttırdığı gösterilmiştir. Probiotik ajan S. boulardii'nin ise akut pankreatitte enfeksiyöz komplikasyonların engellenmesinde yaralı bir ajan olduğuna dair bulgular elde edilmiştir. Akut pankreatitte probiotik ve lavman kullanımının pankreas dokusundaki TNF-alfa ekspresyonunu hangi mekanizma ile azalttığının ve bunun tedavideki öneminin ise ileri çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

1.Boşaltıcı enemanın akut pankreatitte enfeksiyöz komplikasyonları azaltıcı rolü yoktur; aksine bu komplikasyonları arttırma eğilimi vardır.

2. Probiotikler akut pankreatitte pankreas nekrozunun enfekte olmasını engelleyerek enfeksiyöz komplikasyonları azaltıcı etkide bulunmaktadır.

3. Probiotikler akut pankreatitte TNF-alfanın pankreas dokusundaki ekspresyonunu azaltıcı etki göstermektedir. Probiotiklerin bu etkisi, TNF-alfanın hem hastalığın şiddetinde bir belirteç olması hem de prognostik bir gösterge olması açısından anlamlıdır. Bu etki, ileri araştırmalarla daha da somut hale getirilirse klinik uygulama alanı bulabilecektir.

10. KAYNAKLAR

1. van Minnen LP, Nieuwenhuijs VB, de Brujin MT, Verheem A, Visser MR, van Dijk JE, Akkermans LM, Gooszen HG. Effects of Subtotal Cholectomy on Bacterial Translocation During Experimental Acute Pancreatitis. Pancreas 2006;32(1):110-114.

2. Xue P, Deng LH, Zhang ZD,Yang XN, Wan MH, Song B, Xia Q. Effect of antibiotic prophylaxis in acute necrotizing pancreatitis: Results of a randomised controlled trial. J Gastroenterol Hepatol 2009 Feb 11 [Epub ahead of print].

3. Milani R Jr, Perreiria PM, Dolhnikoff M, Saldiva PH, Martins MA. Respiratory Mechanics and Lung Morphometry in Severe Pancreatitis Associated with Lung Injury in Rats. Crit Care Med 1995;23:1882-1889.

4. Andersson R, Wang X, Ihse I. The influence of abdominal sepsis on acute pancreatitis in rats: a study on mortality, permability, arterial pressure and intestinal blood flow. Pancreas 1995;11:365-373.

5. Şahin M, Yol S, Çiftçi E, Baykan M, Özer Ş, Aköz M, Yılmaz O, Kuru C. Does Large Bowel Enema Reduce Septic Complications in Acute Pancreatitis? Am J Surg 1998;176:331-334.

6. Zhang XP, Zhang J, Song QL, ChenHQ. Mechanism of acute pancreatitis complicated with injury of intestinal mucosal barrier. J Zhejiang Univ Sci B 2007;8(12):888-95.

7. Uomo G. Probiotics and Acute Pancreatitis: There is Still a Long Way to Go! JOP. J Pancreas(Online) 2008;9(3):362-364.

8. Fink MP. The Role of Cytokines as mediators of the inflammatory respose. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL, editors. Sabiston Textbook of Surgery. 17th ed. Philedelphia: Elsevier Saunders, 2004;45-66.

9. Sulkowski U, Boin C, Brockmann J, Bünte H. The influence of caecostomy and colonic irrigation on the patophysiology and prognosis in acute experimental pancreatitis. Eur J Surg 1993;159:287-91.

10. Lange JF, Van Gool J, Tytgat GN. The protecttive effect of a reduction in intestinal flora on mortality of acute haemorrhagic pancreatitis in the rat. Hepatogastroenterology 1987;34: 28-30.

11. Malleo G, Mazzon E, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. Role of tumor necrosis factor in acute pancreatitis: from bilogical basis to clinical evidence. Shock 2007;28(2):130-40.

12. Fisher EW. Andersen DK. Bell RH Jr. Saluja AK. Brunicardi FC. Pancreas. In: Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE, editors. Schwartz's Principles of Surgery. 8th ed.USA: The McGrow-Hill Companies, 2005;1221-1297.

13. Steer ML. Exocrine Pancreas. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL, editors. Sabiston Textbook of Surgery. 17th ed. Philedelphia: Elsevier Saunders, 2004;1643-1678.

14. Skandalakis JE. Skandalakis LJ. Kingsnorth AN. Colborn GL, Weidman TA, Skandalakis PN. Pancreas. In: Skandalakis JE, Colborn GL, Weidman TA, Foster RS Jr, Kingsnorth AN, Skandalakis LJ, Skandalakis PN, Mirilas PS, editors. Skandalakis Surgical Anatomy The Embriologic and Anatomic Basis of Modern Surgery. Athens: Paschalidis Medical Publications Ltd., 2004; 1152-1228.

15. Bockman DE. Pancreas. In: Yeo CJ editor. Shackleford's surgery of the alimentary tract. 6th ed. Philedelphia: Elsevier Saunders, 2007; 1287-1295.

16. Busnardo AC, DiDio LJA, Thomford NR. Anatomicosurgical segments of the human pancreas. Surg Radiol Anat 1998;10:77-82.

17. Moore KL. Dalley AF. Clinically oriented anatomy. 5th ed. Baltimore: LWW, 2006;286-288.

18. Hruban RH. Wilentz RE. The Pancreas. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed.Philedelphia: Elsevier Saunders W.B. Saunders Company, Philedelphia, 2005; 939-954.

19. Guyton AC. Hall JE. Textbook of medical physiology. 11th ed. Philedelphia: Elsevier, 2006.S:799-802.

20. Clancy TE. Ashley SW. Management of Acute Pancreatitis In: Zinner MJ, Ashley SW, editors. Maingot's Abdominal Operations. 11th ed. USA: The McGraw-Hill Companies, 2007;939-960.

21. Saluja A, Bhagat L: Pancreatitis and associated lung injury: When MIF miffs. Gastroenterol 2003;124:844-7.

22. Triester SL, Kowdley KV. Prognostic factors in acute pancreatitis. J Clin Gastroenterol 2002;34:167-176.

23. Karne S, Gorelick FS: Etiopatogenesis of acute pancreatitis. Surg Clin North Am 1999;79:699-709.

24. Lerch MM, Saluja AK, Rünzi M, Dawra R, Saluja M, Steer ML. Pancreatic duct obstruction triggers acute pancreatitis in the opossum. Gastroenterology 1993;104(3):853-61.

25. Keck T, Friebe V, Warhsaw AL, Antoniu BA, Waneck G, Benz S, Hopt UT, Fernandez-del-Castillo C. Pancreatic proteses in serum induce lekocyte-endothelial adhesion and pancreatic microcirulatory failure. Pacreatology 2005;5:241-250.

26. Fomella LS, Galloway W. İnflammatory mediators in acute pancreatitis. Br J Surg 1995;82:6-13.

27. Ceranowicz P, Dembinski A, Warzecha Z. Protective and therapeutic effect of heparin acute pancreatitis.Journal of Physiology and pharmachology 2008;59:103-125.

28. Rau BM, Krüger CM, Schilling MK. Anti cytokine strategies in acute pancreatitis: patophysiological insights and clinical implications. Rocz Akad Med Bialymst 2005;50:106-15.

29. Klöppel G. Acute pancreatitis. Semin Diagn Pathol 2004;21:221-226.

30. Banks PA. İnfected necrosis: Morbidity and therapeutic consequences. Hepatogastroenterology 1991; 38(2):116-9.

31. Carrol JK, Herrick B, Gipson T, Lee SP. Acute Pancreatitis: Diagnosis, Prognosis, and Treatment. American Family Physician 2007; 10: 1513-20.

32. Mitchell RM, Byrne MF, Baillie J. Pancreatitis. Lancet 2003; 361:1447-55.

33. Smotkin J, Tenner S. Laboratory diagnostic tests in acute pancreatitis. J Clin Gatroenterol. 2002;34:459-62.

34. 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 1998;16:45-49.

35. Norton SA, Alderson D. Endoscopic ultrasonography in the evaluation of idiopathic acute pancreatitis. Br J Surg 2000;87:1650-5

36. Matos C, Cappeliez O, Winant C, Coppens E, Deviere J, Metens T. MR imaging of the pancreas: a pictorial tour. Radiographics 2002;22:e2.

37. Macary MA, Duncan MD, Harmon JW, Freeswick PD, Bender JS, Bohlman M, et al. The role of magnetic resonance cholangiography in the patients with gallstone pancreatitis. Ann Surg 2005; 241: 119-24.

38. Chatzicostas C, Roussomoustokakki 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 2003;36(3):195-7.

39. Leung TK, Lee CM, Lin SY, Chen HC, Wang HJ, Shen LK, et al. Baltazar computed tomography severity index is superior to Ranson criteia and APACHE II scoring system in predicting acute pancreatitis outcome. J Clin Gastroenterol 2005;11(38):6049-52.

40. Marik PE, Zaloga GP. Meta-analysis of parenteral nutrition versus enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. BMJ 2004;328(7453):1407. Epub 2004 Jun 2.

41. Cavuoti OP, Moody FG, Martinez G. Role of pancreatic duct occlusion with prolamine (Ethibloc) in necrotizing pancreatitis. Surgery 1998;103:361-366.

42. Senninger N, Moody FG, VanBuren DH, Coelho JCU, Li YF. Effect of biliary obstruction on pancreatic exocrine secretion in conscious opossums. Surg Forum 1984;35:226-228.

43. Steer ML. Pathobiology of experimental acute pancreatitis. The Yale Journal of Biology and Medicine 1992;65:421-430

44. Lombardi B, Estes LW, Longnecker DW. Acute hemorragic pancreatitis (massive necrozis) with fat necrozis induced in mice by DL-ethionine fed with choline defficient diet. Am J Pathol 1975;79:465-480.

45. Dabrowski A, Konturek SJ, Konturek JW, Gabrielewicz A. Role of oxidative stress in the pathogenesis of caerulein induced acute pancreatitis. Eur J Pharmacol 1999;377:1-11.

46. Willemer S, Adler G. Mechanism of pancreatitis. Cellular and subcellular events. Int J Pancreatol 1991; 9:21-30.

47. Mizunuma T, Kawamura S, Kishino Y. Effects of injecting excess arginine on rat pancreas. J Nutr1984;114:467-471.

48. Hegyi P, Rakonczay Z Jr, Sari R, Gog C, Lonovics J, Takacs T, Czako L. L-arginine induced experimental acute pancreatitis. W J Gastroenterol 2004;10(14):2003-2009.

49. Waldner H. Vascular mechanisms to induce acute pancreatitis. Eur Surg Res 1992;1:62-7.

50. Wang G, Sun B, Gao Y, Meng QH, Jiang HC. An experimental study of emodin assisted early enteral nutrition for the treatment of severe acute pancreatitis. Hepatogastroenterology 2008;55(81):33-40.

51. de Campos T, Deree J, Martins JO, Loomis WH, Shenvi E, Putnam JG, Coimbra R. Pentoxifylline attenuates pulmonary inflammation and neutrophil activation in experimental acute pancreatitis. Pancreas 2008;37(1):42-9.

52. Camargo EA, Ferrira T, Ribela MTCP, de Nucci D, Landucci ECT, Antunes E. Role of Substance P and Bradykinin in Acute

Pancreatitis induced by Secretory Phospholipase A2. Pancreas 2008;37(1):50-5.

53. Frossard JL, Steer ML, Pastor CM. Acute pancreatitis. Lancet 2008;371(9607):143-152.

54. Lin E. Calvano SE. Lowry SF. Systemic Response to İnjury and Metabolic Support. In: Brunicardi CF, Andersen DK, Billar TM. Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE, editors. Schwartz's Principles of Surgery. 8th ed. USA: The McGraw-Hill Companies, 2005; 3-42.

55. Zhang XP,Lin Q, Zhou YF. Progress on Study on the Relationship Between Mediators of Enflammation and Apoptosisin Acute Pancreatitis. Did Dis Sci 2007; 52:1199-1205.

56. Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, Compton CC, Mandavilli U, Knoefel WT, Warshaw AL. A Better Model of Acute Pancreatitis for Evaluating Theraphy. Ann Surg 1992;215(1):44-56.

57. Bang UC, Semb S, Nojgaard C, Bendtsen F. Pharmacological approach to pancreatitis. World J Gastroenterol 2008; 14(19):2968-2976.

58. Tarasenko V.S, Stadnikov A.A, Nikitenko V.I, Kubyshkin VA, Valyshev AV. Experimental Validation of Efficiency of Probiotics in Combined Therapy of Destructive Pancreatitis. Bulletin of Experimental Biology and Medicine.2000:146(2),176-179.

59. İsenmann R,Rau B, Zoellner U, Beger H. Management of patients with extended pancreatic necrosis. Pancreatology 2001;1:63-8.

60. Şahin T, Aydın S, Yüksel O, Bostancı H, Akyürek N, Memiş L, Başaran N. Effects of the probiotic Saccaromyces Boulardii on the DNA damage in acute necrotizing panceratitis induced rats. Human & Experimental Toxicology 2007;26:653-661.

61. Pezzilli R, Fantini L. Probiotics and Severe Acute Pancreatitis. J Pancreas (Online) 2006;7(1):92-93.

62. Besselink MGH, Timmermen HM, Buskens E, Nieuwenhuijs VB, Akkermans LMA, Gooszen H and the members of the Dutch Acute Pancreatitis Study Group. Probiotic prophylaxis in patients with predicted severe acute pancreatitis (PROPATRIA): design and rationale of a double-blind, placebo-controlled randomised multicenter trial [ISRCTN38327949]. BMC Surgery 2004, 4:12 doi:10.1186/1471-2482/4/12

63. Medich DS, Lee TK, Melhem MF, Rowe MI, Schraut WT, Lee KK. Pathogenesis of pancreatic sepsis. Am J Surg 1993;165:46-50.

64. Takeda K, Matsuna S, Sunamura M, Kakugawa Y. Continious regional arteriel infusion of protease inhibitor and antibiotics in acute necrotising pancreatitis. Am J Surg 1996;171:394-398.

65. İsaji S, Suzuki M, Frey CF, Ruebner B, Carlson J. Role of Bacteriel infection in diet-induced acute pancreatitis in mice. Int. J Pancreatol 1992;11:49-57.

66. Ammori BJ, Leeder PC, King RF, Barclay GR, Martin IG, Larvin M, McMohan MJ. Early increase in intestinal permeability in

patients with severe acute pancreatitis: correlation with endotoxemia, organ failure and mortality. J Gastrointestinal Surg 1999;3:252-62.

67. Deitch EA. The role of intestinal barrier failure and bacteriel translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure. Arch Surg 1990;125:403-04

68. Van Leeuwen PA, Boermeester MA, Houdijk AP, Ferweda CC, Cuesta MA, Meyer S, Wesdorp RI. Clinical significance of translocation. Gut 1994;35:28-34.

69. Steffen EK, Berg RD. Relationship between cecal poplation levels of indigenous bacteria and translocation to the mesenteric lymph nodes. Infect Immun 1983;173(1):73-83.

70. Vandenplas Y, Brunser O, Szajewska H. Saccharomyces boulardii in childhood. Eur J Pediatr 2009;168:253-265.

71. van Minnen LP, Timmerman HM, Lutgendorff F, Verheem A, Harmsen W, Konstantinov SR, et al. Modification of intestinal flora with multispecies probiotics reduces bacterial translocation and improves clinical course in a rat model of acute pancreatitis. Surgery 2007;141(4):470-80. Epub 2007 Jan 25.

72. Mikami Y, Dobschütz EV, Sommer O, Wellner U, Unno M, Hopt U, Keck T. Matrix metalloproteinase-9 derived from polymorphonuclear neutrophils increases gut barrier dysfunction and bacterial translocation in rat severe acute pancreatitis.Surgery 2009;145(2):147-156.

73. Matheus AS, Coelho AM, Sampietre S, Patzina R, Jukemura J, Cunha JE, Machado MC. Effect of inhibition of prostoglandin E2 production on pancreatic infection in experimental acute pancreatitis. HPB(Oxford). 2007;9(5):392-7

74. Müftüoğlu MA, Işıkgör S, Tosun S, Sağlam A. Effects of of probiotics on the severity of experimental acute pancreatitis. Eur J Clin Nutr 20057; December 2005 [PMID 16340953].

75. Olah A, Belagyi T, Issekutz A, Gamal ME, Bengmark S. Randomized clinical trial of spesific lactobacillus and fibre supplement to early enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. Br. J Surg 2002;89:1103-7[PMID 16340953].

76. Besselink MGH, van Santvoort HC, Buskens E, Boermeester MA, van Goor H, Timmerman HM, et al. Probiotic prophylaxis in predicted acute pancreatitis: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. Lancet 2008;371:651-59

77. Can M, Besirbellioğlu BA, Avcı IY, Beker CM, Pahsa A. Prophylactic Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a prospective study. Med Sci Monit 2006;12:19-22.

78. Fidan I, Kalkancı A, Yeşilyurt E, Yalçın B, Erdal B, Kuştimur S, İmir T. Effects of Saccharomyces boulardii on cytokine secretion from intraepithelial lymphocytes infected by Escherichia coli and Candida albicans. Mycoses 2008;52:29-34.

79. Beutler B, Grau G. Tumor necrosis factor in the pathogenesis of infectious diseases. Crit Care Med 1993;10:423-425.

80. Vassalli P. The Pathophysiology of tumor necrosis factors. Ann Rev İmmunol 1992;10: 411-452.

81. Kaufmann P, Tilz GP, Lueger A, Demel U. Elevated plasma levels of soluble tumor necrosis factor receptor (sTNFRp60) reflect severity of acute pancreatitis. İntensive Care Med 1997;23:841-848.

82. Brivet FG, Emilie D, Galanaud P. Pro and anti-inflammatory cytokines during acute severe pancreatitis. Crit Care Med 1999;27:749-755.

83. Makhija R, Kingsnorth NA. Cytokine storm in acute pancreatitis. J Hepatobiliary Pancreat Surg 2002;9:401-10.

84. Gukovskaya AS, Gukovsky I, Zaninovic V, Song M, Sandoval D, Gukovsky S, Pandol SJ. Pancreatic acinar cells produce ,release and respond to tumor necrosis factor-alpha. Role in regulating cell death and pancreatitis. J Clin Invest 1997; 100: 1853-1862

85. Vaccaro MI, Ropolo A, Grasso D, Calvo EL, Ferreria M, Iovanna JL, Lanosa G. Pancreatic acinar cells submitted to stres activate TNF-alpha gene expression. Biochem Biophys Res Commun 2000;268:484-490.

86. Malleo G, Mazzon E, Genovese T, Di Paola R, Muia C, Centorrino T, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. Etanercept attenuates the

development of cerulein-induced acute pancreatitis in mice: a comparison with TNF-alpha genetic deletion. Shock 2007;27:542-551.

87. Oruç N, Özütemiz AO, Yükselen V, Nart D, Çelik HA, Yüce G, Barut Y. İnfliximab: a new therapeutic agent in acute pancreatitis? Pancreas 2004;28(1):e1-8.

88. Malleo G, Mazzon E, Genovese T, Di Paola R, Muia C, Crisafulli C, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. Effects of Thalidomide in a Mouse Model of Cerulein-induced acute pancreatitis. Shock 2008; 29(1)89-97.

89. Triantafillidis JK, Cheracakis P, Hereti IA, Argyros N, Kara E. Acute idiopathic pancreatitis complicating Chron's disease: favourable responce to infliximab treatment. Am J Gastroenterol 2000;95:3334-3336.

90. Dalmasso G, Loubat A, Dahan S, Calle G, Rampal P, Czerucka D. Saccharomyces boulardii prevents TNF-alpha-induced apoptosis in EHEC infected T84 cells. Research in Microbiology 157(2006)456-465.

91. Papachristou GI. Prediction of acute pancreatitis: current knowledge and novel insights. World J Gastroenterol 2008;14(41):6273-5

8. ÖZET

Ratlarda deneysel olarak geliştirilen akut pankreatitte probiotik kullanımı ve enemanın septik komplikasyonların azaltılmasındaki yeri

Bu çalışmanın amacı, akut pankreatitte lavman, probiotik ajan Saccharomyces boulardii ve bu iki ilacın birlikte kullanımının bakteriyel translokasyon, pankreatit şiddeti, TNF-alfa serum düzeyleri ve pankreastaki TNF-alfa ekspresyonları üzerine etkisini ve bu faktörlerin birbiri ile ilişkisini araştırmaktır.

Çalışmamızda her birinde 8'er rat olan 5 deney grubundan birincisine sham laparotomi yapıldı (Grup 1). Kalan 4 gruba laparotomi yapılarak biliopankreatik duktustan %3,5'luk taurokolat verildi ve bu yolla pankreatit oluşturuldu. Kontrol grubuna (Grup 2) tedavi uygulanmadı. Üçüncü gruba laparotomi sonrası 6 ve 24. saatlerde lavman uygulandı. Dördüncü gruba yine aynı saatlerde probiotik verildi. Beşinci gruba aynı saatlerde hem probiotik hem lavman uygulandı. Hayvanlar 48. saatte sakrifiye edilerek doku kültürü yapılması, pankreasın histopatolojik incelemesi ve pankreas dokusundan TNF-alfa ekspresyonu çalışmak için doku örnekleri alındı. Amilaz ve serum TNF-alfa düzeyleri ile kan kültürü çalışılması için kan örnekleri alındı.

Bütün pankreatit gruplarında amilaz düzeyleri, sham grubuna göre anlamlı biçimde yüksek çıktı ($p<0,05$). Mezenterik lenf nodlarında üreme olan rat sayısı lavman grubunda bütün gruplara göre anlamlı biçimde fazlaydı ($p<0,05$). Probiotik grubu ile probiotik+lavman gruplarında duodenum ve pankreas dokularında hiç üreme olmadı ve diğer gruplarla bu iki grup arasında bu açıdan

anlamlı fark vardı ($p<0,05$). Pankreas dokusundaki TNF-alfa ekspresyon düzeyleri kontrol grubunda sham grubuna ve diğer çalışma gruplarına göre anlamlı biçimde yüksekti ($p<0,05$). Sham grubu, probiotik ve probiotik+lavman grupları arasında pankreas dokusundaki TNF-alfa düzeyleri açısından anlamlı fark yoktu.

Çalışmamızda akut pankreatitin enfeksiyöz komplikasyonlarının tedavisinde boşaltıcı lavmanın bakteriyel translokasyonu önlemediği; aksine arttırdığı gösterilmiştir. Probiyotik ajan S. boulardii'nin ise akut pankreatitte enfeksiyöz komplikasyonların engellenmesinde yaralı bir ajan olduğuna dair bulgular elde edilmiştir. Akut pankreatittte probiotik ve lavman kullanımının pankreas dokusundaki TNF-alfa ekspresyonunu hangi mekanizma ile azalttığının ve bunun tedavideki öneminin ise ileri çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akut pankreatit, probiotik, lavman

9. SUMMARY

The Role of the Use of Probiotics and Enema in Reducing the Septic Complications of Experimental Acute Pancreatitis in Rats

The purpose of this study was to investigate the effects of enema, probiotic agent Saccharomyces boulardii, and these two used together on the bacterial translocation, the histopathologic scores of pancreatitis, TNF-alpha serum levels, and the tissue expression of TNF-alpha in pancreatic tissue in Acute Pancreatitis .

Sham laparotomy was made to the rats in one of the 5 groups consisting of 8 animals each (Group 1). Acute pancreatitis was induced in the other 4 groups by laparotomy, biliopancreatic ductal cannulation and infusion of 3,5 % taurocholate into the biliopancreatic duct. No medications were given to the control group (Group 2). The third group was treated with enemas at the 6th and 24th hours after the induction of acute pancreatitis. The fourth group received probiotic agent S. boulardii via gastric cannulation at the 6th and 24th hours after the induction of acute pancreatitis. The fifth group was treated both with enema and probiotics at the 6th and 24th hours after the induction of acute pancreatitis. The animals were sacrificed at the 48th hour after the induction of acute pancreatitis and tissue samples were harvested for tissue culure, histopathologic examination of pancreatic tissues and the definition of TNF-alpha levels in pancreatic tissue. Blood samples were obtained for blood culture and the definition of serum amilase and TNF-alpha levels.

Amilase levels were significantly high in all the pancreatitis groups when compared to the sham group ($p<0,05$). In the enema group there were significantly more rats with bacterial proliferation in mesenteric lymph nodes ($p<0,05$). In the probiotic group and probiotic+enema group there were no spleen or duodenum tissues with bacterial proliferation and this was significant when compared to the other groups ($p<0,05$). Tissue expression of TNF-alpha in pancreatic tissue was significantly high in the control group when compared to all the other groups ($p<0,05$). There was no significant difference between the sham group, probiotic group and probiotic+enema group in the tissue epression levels of TNF-alpha.

Our study has shown that there is no benefit in using enema in acute pancreatitis in the means of reducing septic complications. Enema can even augment the septic complications in acute pancreatitis. Our data show that the probiotic agent S. boulardii may be beneficial in the prevention of infectious complications of acute pancreatitis. The mechanism by which probiotics and enema reduce the expression of TNF-alpha in the pancreatic tissue during acute pancreatitis and the clinical significance of this phenomenon remains to be explained by future studies.

Keywords: Acute pancreatitis, probiotics, enema

11. ÖZGEÇMİŞ

Ad: Bahadır Osman

Soyad: BOZKIRLI

Doğum Yeri ve Tarihi: 26 Ekim 1979

Eğitimi: İlköğretimini Kavaklıdere İlkokulu'nda, ortaokul ve liseyi TED Ankara Koleji'nde tamamladı. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2003 yılında mezun oldu. 2003 yılından beri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ABD'de Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

Yayınları:

1. Leventoğlu S, Menteş BB, Bozkırlı B, Tezcaner T. Kolonoskopi Deneyimlerimiz: Ardışık 983 Hastanın İncelenmesi. Kolon ve Rektum Hastalıkları Dergisi 2007;3:133-138
2. Leventoğlu S, Menteş BB, Bozkırlı B, Oğuz M. Rektoselde Transperineal Sütür Onarımla Polipropilen Mesh ile Onarım Sonuçlarının Karşılaştırılması: Prospektif Randomize Çalışma. Kolon ve Rektum Hastalıkları Dergisi 2007; 17: 9-15

Poster :

1. Bozkırlı B, Akın M, Leventoğlu S, Samur N, Akyürek N, Şare M. İnsidental Olarak Saptanan Karaciğer Schwannomu; Olgu Sunumu. Ulusal Cerrahi Kongresi, 28-31 Mayıs 2008. (Kitap Kodu: HPB-P-31)