

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI BİLİM DALI**

**DENEYSEL KRONİK PANKREATİTTE N-ASETİL SİSTEİN
UYGULAMASININ PANKREATİK FİBROZ ÜZERİNE ETKİSİ**

Ramazan ÖCAL

Tbp.Yzb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Askeri Tıp Fakültesi'nin
İç Hastalıkları Bilim Dalı İçin Öngördüğü

UZMANLIK TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
M. Refik MAS
Doç. Tbp.Kd.Alb.

ANKARA

2007

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığına,

“ Deneyisel Kronik Pankreatitte N-Asetil Sistein Uygulamasının Pankreatik Fibroz Üzerine Etkisi” konulu bu çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Bilim Dalı’ nda Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Doç.Tbp.Kd.Alb. M. Refik MAS

Başkan : Prof.Tbp.Kd.Alb. Selahattin ERİKÇİ

Üye : Prof.Tbp.Tuğg. Mustafa KUTLU

Üye : Prof.Tbp.Tuğg. M. Tahir ÜNAL

Üye : Prof.Dz.Tbp.Kd.Alb. Abdulgaffar VURAL

Üye : Doç.Tbp.Kd.Alb. Kenan SAĞLAM

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb. A. Uğur URAL (Yd.)

Üye : Doç.Dz.Tbp.Kd.Alb. M. Fatih BULUCU (Yd.)

ONAY:

Tbp.Yzb. Ramazan ÖCAL’ ın 08/10/2007 tarihinde savunduğı bu tez Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve kabul edilmiştir.

M. Zeki BAYRAKTAR
Prof.Tbp.Tümgeneral
GATA K. Bil. Yrd.,
Askeri Tıp Fakóltesi Dekanı
ve Eğitim Hastanesi Baştabibi

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada N-asetil sistein tedavisinin, deneysel olarak kronik pankreatit oluşturulmuş ratlarda fibroz gelişimi üzerine etkisi araştırılmış ve bu tedavi ile oksidatif stres belirteçlerindeki değişimler incelenmiştir.

Konunun belirlenmesi, çalışmanın yürütülmesi ve ortaya çıkan sorunların aşılmasında yardım ve bilimsel katkılarını esirgemeyen, tez danışmanım Doç.Tbp.Kd.Alb. M.Refik MAS' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca, yetişmeme olan değerli katkılarından dolayı başta İç Hastalıkları Bilim Dalı Başkanı sayın hocam Prof.Tbp.Kd.Alb. Selahattin ERİKÇİ olmak üzere, Prof.Em.Tbp.Tuğg. İsmail Hakkı KOÇAR' a, Prof.Tbp.Tuğg. M. Tahir ÜNAL' a, Doç.Tbp.Kd.Alb. Kenan SAĞLAM' a, Doç.Dz.Tbp.Kd.Alb. Fatih BULUCU' ya, Prof.Em.Hv.Tbp.Kd.Alb. Yavuz BAYKAL' a, Doç.Tbp.Alb. Bayram KOÇ' a, Doç.Tbp.Bnb. Alper SÖNMEZ' e, Yrd.Doç.Tbp.Bnb. Teoman DOĞRU' ya, Yrd.Doç.Tbp.Bnb. İlker TAŞÇI' ya, Yrd.Doç.Dz.Tbp.Bnb. Gökhan ERDEM' e ve bütün İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkürlerimi arz ederim.

Çalışmamın gerçekleşmesinde değerli yardımlarından dolayı, Doç.Tbp.Alb. Bilgin CÖMERT, Doç.Hv.Tbp.Bnb. Levent YAMANEL, Hv.Tbp.Kd.Yzb. Volkan İNAL ve Tbp.Kd.Ütğm. Halil Ertürk' e, uzmanlık eğitimi süresince, birlikte çalıştığım desteklerini ve zamanlarını esirgemeyen Tbp.Yzb.Halil GENÇ, Tbp.Yzb. Fatih KESKİN ve J.Tbp.Yzb. Coşkun MERİÇ' e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, uzmanlık öğrenciliğim boyunca birlikte çalıştığım tüm uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı, hemşireleri ve klinik personeline de teşekkür ediyorum.

Tüm çalışma hayatım boyunca, zor anlarımda yanımda olarak desteğini esirgemeyen, sevgili eşime minnet duygularımı ifade etmek isterim.

Ramazan ÖCAL

Tbp.Yzb.

ÖZET

Tbp. Yzb. Ramazan ÖCAL, “Deneyisel kronik pankreatitte N-asetil sistein uygulamasının pankreatik fibroz üzerine etkisi”, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Bilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2007. Bulundurduğu SH grubu sayesinde kuvvetli bir antioksidan olan N-asetil sisteinin kronik pankreatitte yerleşik fibroz, atrofi ve oksidatif stres parametreleri üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla çalışmada, 60 adet erkek Sprague-Dawley rat dört gruba randomize edilmiştir. Pankreatik kanal içerisine 0,4 ml % 2' lik trinitrobenzen sülfanik asit (TNBS) uygulanarak kronik pankreatit indüksiyonu yapılmıştır. Grup I (n=15): serum fizyolojik (sham) grubu, Grup II (n=15): N-asetil sistein (NAC) grubu; TNBS indüksiyonundan 4 hafta sonra, 4 hafta süre ile 50 mg/kg/gün intraperitoneal NAC. Grup III (n=15): Fibroz grubu, TNBS indüksiyonundan 4 hafta sonra, 4 hafta süre 10 ml/kg/gün intraperitoneal steril salin. Grup IV: Etanol grubu; pankreatik kanal içerisine 0,4 ml %10 etanol uygulamasından 4 hafta sonra, 4 hafta süre ile 10 ml/kg/gün periton içerisine steril salin. 8 hafta sonunda tüm ratlar sakrifiye edilerek pankreas dokusunda oksidatif stres belirteçleri ile fibroz ve atrofi skorları değerlendirilmiştir.

Dokuda malondialdehid düzeyleri NAC ile tedavi edilen grupta TNBS grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p<0,001$), süperoksid dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri anlamlı derecede daha yüksektir (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). Histopatolojik değerlendirmede NAC grubunda değerlendirme skoru anlamlı derecede düşük ($p<0,003$) ve doku oksidatif stresinde artış ile yüksek patoloji skoru arasında anlamlı düzeyde ilişkili bulunmuştur (Patoloji skoru / MDA : $p<0.03$, SOD : $p<0.04$, GSH-Px : $p<0,02$). NAC uygulaması kronik pankreatitte oksidatif stresi azaltırken, yerleşik fibroz ve atrofide de iyileştirici etkilere sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Deneyisel kronik pankreatit, N-asetil sistein, fibroz.

SUMMARY

Med. Capt. Ramazan OCAL, “Effect of N-acetylcysteine on fibrosis in experimental chronic pancreatitis.”, Gulhane Military Medical Academy, Military Medical School, Department of Internal Medicine, Dissertation-specialization in medicine, Ankara, 2007. We aimed to assess the effect of a powerful antioxidant, with its SH group, N-acetylcysteine on fibrosis, atrophy and oxidative stress in chronic pancreatitis.

For that reason, 60 male, Sprague-Dawley rat randomized into four group. Chronic pancreatitis is induced by injection of 0,4 ml, 2% trinitrobenzene sulfanic acid (TNBS) into major pancreatic duct. Group I (n=15): saline (sham), Grup II (n=15): N-acetylcysteine; TNBS induction, 4 weeks later 50 mg/kg/day intraperitoneal NAC, for 4 weeks. Grup III (n=15): Fibrosis; TNBS induction, 4 weeks later, 10 ml/kg/day intraperitoneal sterile saline for four weeks. Grup IV: Ethanol; 0,4 ml, 10% ethanol injection into pancreatic duct, 4 weeks later 10 ml/kg/day intraperitoneal sterile saline, for 4 weeks. At the end of the 8th week all rats have been sacrificed, and rat pancreatic tissues, oxidative stress markers and progression of fibrosis and atrophy have been examined.

Tissue malondialdehyde (MDA) levels has been found significantly lower in NAC group ($p<0,001$), superoxide dismutase (SOD) and glutation peroxidase (GSH-Px) activities have been significantly higher with respect to TNBS group (respectively $p<0,001$ and $p<0,001$). Histopathological analysis of the tissues revealed that score of NAC group was significantly lower at respect to TNBS group ($p<0,003$) and has been found a significant relation between increase in oxidative stress and histopathology score. (Histopathology score / MDA : $p<0.03$, SOD : $p<0.04$, GSH-Px : $p<0,02$). Administration of NAC, decreases oxidative stress in chronic pancreatitis and has beneficial effects on fibrosis and atrophy.

Key words: Experimental Chronic Pancreatitis, N-acetylcysteine, fibrosis.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	x
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pankreas Morfoloji ve Fizyolojisi	3
2.2. Kronik Pankreatit	5
2.3. N-Asetil Sistein	20
GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1 Deney Hayvanları	26
3.2 Çalışma Grupları	26
3.3 Pankreatit İndüksiyonu	28
3.4 Sakrifikasyon	29
3.5 Laboratuvar İncelemeleri	29
3.6 İstatistiksel değerlendirme	30
BULGULAR	31
4.1 Ratların kilo değişimleri	31
4.2 Oksidatif stres belirteçleri	31
4.3 Histopatolojik bulgular	34
TARTIŞMA	40
SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

GATA	: Gülhane Askeri Tıp Akademisi
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
PDGF- β	:Trombosit kaynaklı büyüme faktörü-beta
TGF	:Transforme edici büyüme faktörü
TNF- α	:Tümör nekroze edici faktör-alfa
IL	:İnterlökin
MCAP-1	:Monosit kemoatraktan protein-1
NAC	:N-asetil sistein
SH	: Sülfidril
BT	:Bilgisayarlı tomografi
ERKP	:Endoskopik retrograd kolanjiyopankreatografi
MRI	:Manyetik rezonans görüntüleme
MRKP	:Manyetik rezonans kolanjiopankreatografi
PSH	:Pankreatik stellat hücre
IFN- γ	:İnterferon-gamma
MMP	:Matriks metalloproteinaz
SOR	:Serbest oksijen radikalleri
MDA	:Malondealdehid
SOD	:Süperoksit dismutaz
GSH-Px	:Glutatyon peroksidaz
NF- κ B	:Nükleer faktör kappa-B
IKK	:İnhibitör κ B kinaz
GSH	:Glutatyon
SF	:Serum fizyolojik
TNBS	:Trinitrobenzen sülfonik asit
FTS	:Fosfat tamponlu salin

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1. Ekzokrin pankreas	4
2.1. Kronik pankreatitte fibroz gelişimi	18
2.2. Kronik pankreatitte etiyopatogenez	20
3.1. Çalışma grupları	27
4.1. Ratların haftalık kilo değişimleri	31
4.2.1. Gruplara göre doku MDA düzeyleri	33
4.2.2. Gruplara göre doku SOD enzim aktiviteleri	33
4.2.3. Gruplara göre doku GSH-Px enzim aktiviteleri	34
4.3.1. Normal rat pankreas dokusu	34
4.3.2. Korunmuş asiner gruplar ve sublobüler atrofi	35
4.3.3. Yaygın sublobüler atrofi	35
4.3.4. Pankreatik lobülde korunmuş asiner kümeler ile arada atrofik alanlar	35
4.3.5. Lobüler atrofi ve perisellüler fibrozis	36
4.3.6. A. İnterlober fibrozis ve fokal asiner atrofi	36
B. Yaygın sublobüler fibrozis	
4.3.7. Lobüler atrofi ve perisellüler fibrozis	37
4.3.8. Periasiner yerleşimle pankreatik stellat hücreler	37
4.3.9. Fibrotik alanlarda α -SMA pozitif (aktive) stellat hücrelerin varlığı	38
4.3.10. Histopatolojik fibroz skorları	39
4.3.11. Histopatolojik değerlendirme ortalama patoloji skorları	39

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
2.1 Kronik pankreatit ile ilişkili risk faktörleri	7
2.2 Kronik pankreatit tanısında kullanılan yöntemler	9
2.3 Tanıda kullanılan bazı testlerin sensitivite / spesifite oranları	9
2.4 Pankreatik stellat hücre fenotip özellikleri	17
3. Pankreas doku örneklerinin histopatolojik skorlaması	30
4.1 Ratların ağırlıklarındaki değişim	32
4.2.1. Grupların MDA, SOD ve GSH-Px enzim aktivite düzeyleri	32
4.2.2. Gruplar arasında oksidatif stres belirteçlerinin karşılaştırılması	32
4.3 Histopatolojik patoloji skorları	38

1. GİRİŞ

Kronik pankreatit, çeşitli etiyolojiler nedeni ile oluşan süreğen inflamasyon sonucunda tüm organda ilerleyici yıkım ile ortaya çıkan, geri dönüşümsüz ekzokrin ve endokrin fonksiyon kaybı ile karakterize bir tablodur (1). Altta yatan nedenden bağımsız olarak temel histolojik bulgular asiner hücrelerin kaybı, asiner hücrelerin tubul komplekslerine diferansiye olamaması, immün hücrelerin infiltrasyonu, pankreatik sinirlerde dejenerasyon ve düzensiz parankimal fibroz şeklinde tanımlanmaktadır (2). Akut ve kronik pankreatit, patofizyolojik mekanizmaları ile birbirinden ayrılmaktadır. Tekrarlayan akut pankreatit ataklarının her zaman kronik pankreatite yol açıp açmadığı ise tartışmalıdır (3). Çok sayıda büyüme faktörü, sitokin ve kemokinlerin lokal inflamasyon ve kollajen üretimi gibi otokrin ve parakrin etkileri ile kronik pankreatit mekanizmasına katıldığı gösterilmiştir. Fonksiyonel ve mekanik nedenler kronik inflamasyon ve tamir sürecine neden olan bir dizi olay başlatır ve sonuçta hücre seviyesinde temel olarak epidermal büyüme faktörü (EGF) (4), trombosit kaynaklı büyüme faktörü-beta (PDGF- β) (5,6), transforme edici büyüme faktörü (TGF) (7), tümör nekroze edici faktör-alfa (TNF- α) ve interlekin (IL) 1,6 ve 10 (8), aktivin-A (9), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) (10) ve renin anjiyotensin sistemi (11) ile kontrol altında tutulan fibroz ve skar oluşumu ile sonuçlanır. Ancak hasarın birincil mekanizması etiyolojiye bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

Oksidatif stres sadece akut pankreatitte hücre ve doku hasarına katılmakla kalmaz aynı zamanda kronik pankreatit mekanizmasına da katılır. Bu nedenle çeşitli araştırmacılar tarafından antioksidan tedavinin kronik pankreatit üzerine etkileri çalışılmıştır (12). Reaktif oksijen ürünlerinin pankreasta kollajen birikimini tetiklediği yönünde yeterli bilgi bulunmamaktadır. Ancak, oksidatif stres ile ilişkili moleküller ve inflamasyon ile açık ilişkisi bulunan lipid peroksidasyonu ürünleri, kronik pankreatitte fibroza yol açan patofizyolojik olayların sürekliliği için gerekli baş rol oyuncularından biridir. Uzun süreli oksidatif hasar sonrasında pankreasta yer alan doğal antioksidan savunma sistemleri hasarı önlemekte yetersiz

kalırlar ve bu nedenle antioksidan destek verilmesi, ekzokrin ve endokrin pankreas yetmezliğinin göstergesi olan fibroz gelişimi ve derecesini azaltabilir.

N-asetil sistein (NAC), bir sülfidril (SH) grubu kaynağıdır, SH grubu reaktif oksijen ürünlerine karşı savunmada gereklidir. NAC etkisinin büyük çoğunluğunu oksidatif stresin etkisini azaltarak göstermektedir (13,14) ve özellikle erken dönemde uygulandığında deneysel akut pankreatitte hastalık parametrelerinde düzelme sağladığı gösterilmiştir (15,16,17).

Bir hayvan modeli ile gerçekleştirilmiş olan bu çalışma kuvvetli bir antioksidan olan NAC' in kronik pankreatitte fibrojeniz üzerine iyileştirici etkisi olup olmadığını araştırmak amacı ile gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreas Morfoloji ve Fizyolojisi

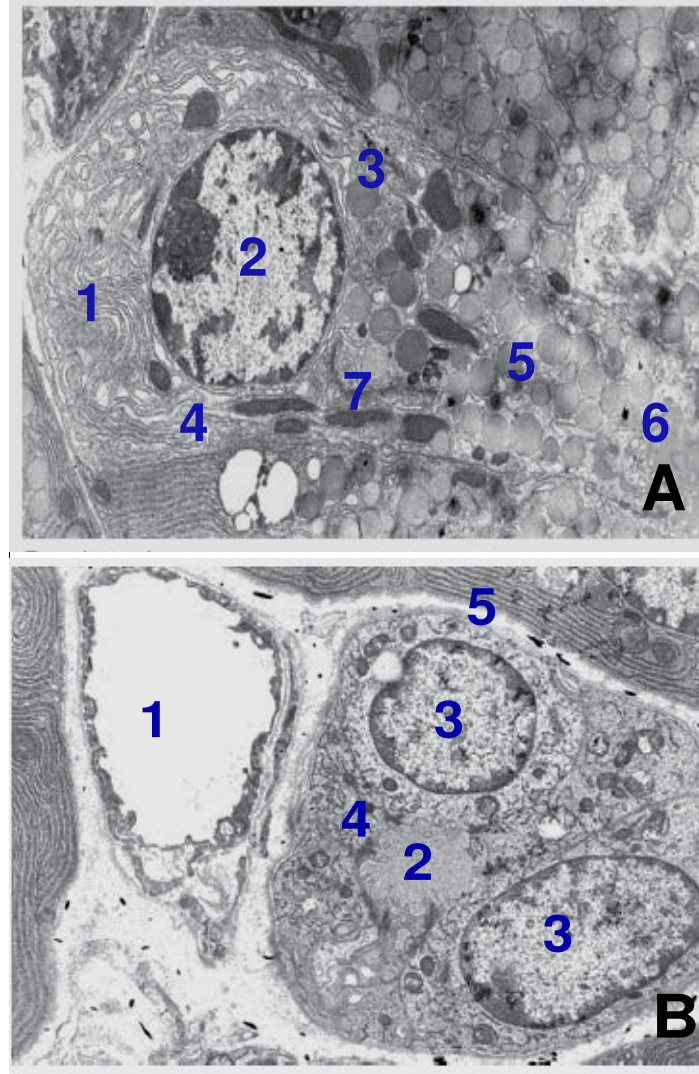
Pankreas; endokrin ve ekzokrin fonksiyonları bulunan retroperitoneal olarak yerleşmiş, primitif ön bağırsağın endoderm hücrelerinden kaynak alan bir organdır. Uzunluğu yaklaşık 12-15 cm., ağırlığı ise 70-100 gr. kadardır. Anatomik olarak; *caput*, *collum*, *corpus* ve *cauda* olarak dört kısma ayrılır. Cauda'dan başlayarak *caput pancreatis*'e kadar uzanan *ductus pankreaticus* (Wirsung kanalı) daha sonra *ductus choledochus* ile birleşerek, *papilla duodeni majör* ile duodenumun ikinci kısmına açılmaktadır.

Kanlanmasını *a. splenica*, *a. pancreaticoduodenalis superior* ve *inferior* sağlarken; *v. splenica*, *v. portae hepatis* ve *v. mesenterica superior* ile venöz, *nodi lymphatici pancreaticolienales* ve *nodi lymphatici mesenterici superiores* ile lenfatik drenajı sağlanmaktadır. Hem sempatik hem de parasempatik uyarıları; *n. splanchnicus* ve *n. vagus* tarafından yapılmaktadır.

Pankreasın fonksiyonel birimini pankreatik asinüs oluşturmaktadır. Pankreatik asinüs; bir lümeni çevreleyen, piramit şeklinde, protein sentez aktivitesi yüksek, çok sayıda organel içeren, polarize, seröz hücreler olan, asiner hücreler ve duktal hücrelerden meydana gelmektedir. Asiner hücreler; yüksek miktarlarda protein özellikle tripsinojen, kimotripsin, karboksipeptidaz, ribonükleaz, deoksiribonükleaz, triasilgliserol lipaz, fosfolipaz A2, elastaz ve amilaz gibi pek çok enzim ve proenzim sentez, depolama ve sekresyon için zengin ve özelleşmiş bir matrikse sahiptir. Duktal hücreler ise özellikle su ve elektrolit sekrete ederler. Ekzokrin salgı, besinlerin duodenuma girmesi ile mukozanın enteroendokrin hücrelerden salgılanan hormonlar tarafından kontrol edilmektedir (Şekil 1. A ve B).

Pankreasın endokrin kısmını ise; seröz asini arasına gömülü olan ve pankreasın sadece %1-2 kadarını oluşturan Langerhans adacıkları meydana getirmektedir. Damar ve kapiller yapıdan zengin olan bu adacık hücreleri, daha çok pankreasın kuyruk bölümünde bulunmaktadır. Adacık hücrelerinin %70' ini beta (insülin), %15-20' sini alfa (glukagon), %5-10' unu delta (somatostatin), %5' ini protein polipeptid-P (pankreatik polipeptit), delta-1

(vazoaktif intestinal polipeptit) ve enterokromofin (sekretin, motilin ve substans P),%1 kadarını da G (gastrin) hücreleri oluşturmaktadır.



Şekil 1. Ekzokrin pankreas. (A). Asiner hücre organizasyonu. Pankreatik sindirim enzimleri endoplazmik retikulumda sentezlenerek perinükleer yerleşimli olan Golgi alanına gönderilir ve diğer proteinlerden ayrılarak yoğunlaştırıcı veziküllere yerleştirilir. Vezikül içerisinde olgunlaşmış zimojenler oluşur ve duktusa yakın bölgeye hücrenin apikal sonuna iletilirler. Hücrenin apikal kutbu luminal membran, endoplazmik retikulum ve mitokondride yer alan kalsiyum pompaları sayesinde hücre içerisindeki hiperkalsemiden korunur. 1. Endoplazmik retikulum 2. Nükleus 3. Golgi 4. Mitokondri 5. Zimojen granüller 6. Duktus lümeni 7. Yoğunlaştırıcı veziküller (B). Küçük bir pankreas kanalı kavşağında yer alan duktal hücreler. 1. Ven 2. Duktus lümeni 3. Nükleus 4. Apikal 5. Bazolateral Whitcomb D. 'dan alınmıştır (1).

Pankreas sekresyonunun 3 fazı vardır; sefalik, gastrik ve intestinal fazlar. **Sefalik faz;** vagal kolinerjik innervasyon ile gıdaları düşünme, görme, tatma ve koklama ile uyarılır. **Gastrik faz;** vagal kolinerjik refleks ile düzenlenen gastrik gerilmeye yanıt olarak meydana gelmektedir. **İntestinal faz;** postprandiyal pankreatik sekresyonun en önemli aşamasıdır. Tüm pankreas sekresyonunun %70-80' ini oluşturmaktadır, sekretin ve kolesistokinin salınımı ile düzenlenmektedir. Sekretin; duodenumdan dolaşıma salınır ve duktal hücrelerden bikarbonat ve su sekresyonundan sorumludur. Kolesistokinin ise temel olarak asiner hücrelerden proteaz enzimlerinin sekresyonundan sorumludur.

2.2. Kronik Pankreatit

2.2.1. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Pankreatit genel olarak akut ve kronik pankreatit olarak ikiye ayrılmaktadır. Akut pankreatit; pankreasta parankimal hücre hasarı, nekroz ve apoptozun eşlik ettiği akut inflamasyondur. Alkol kullanımı ve safra taşı en sık akut pankreatit nedenleridir. Kronik pankreatit ise malabsorbsiyon, diyabet ve ciddi ağrı ile sonuçlanan pankreasın ilerleyici, hasarlayıcı inflamasyonudur (18).

Kronik pankreatitin aşikar hastalıkta bildirilen insidans ve prevalansı gerçek spektrumu yansıtamamaktadır. Kopenhag (19), ABD (20) ve Mexico City (21) serilerinin tümü de 4/100,000 şeklinde benzer bir insidans ve yılda 13/100,000 prevalans bildirmiştir. Artan alkol kullanımı ve tanısal testlerin sensitivitesinde artma bu çalışmalarda bildirilenden daha fazla kronik pankreatit hastası bulunduğu düşünülmesine yol açmaktadır. İngiltere'de 1989/90 ve 1999/2000 yılları arasındaki hastane başvurularını inceleyen bir çalışmada; akut pankreatit nedeniyle başvuru oranlarında %43, bunun yanında kronik pankreatit nedeniyle başvuru oranlarında ise %100' lük bir artış olduğu tespit edilmiştir (22).

2000 yılında Japonya' da yapılmış olan bir çalışmada kronik pankreatit hastalarının %68' ine bilgisayarlı tomografi (BT) ya da endoskopik retrograd kolanjiyopankreatografi (ERKP) ile tanı konulmuştur. Böylece

prevalans oranı erkeklerde 45,4/100,000, kadınlarda ise 12,4/100,000 olarak tespit edilmiştir (23).

İnsidansın 45-54 yaşları arasında pik yapmaktadır. Kronik pankreatit olgularındaki mortalite oranları ise %30-40 civarındadır (24). İleri dereceli kronik pankreatitli hastaların yaşam sürelerinin yaklaşık 10-20 sene kadar azaldığı bildirilmektedir (25).

Özellikle batı toplumlarında vakaların %70 kadarından alkol tüketimi sorumlu tutulmakta, %20' si idiyopatik (tropikal pankreatit dahil) ve %10 kadarı da diğer sebeplere bağlı gelişmektedir (26,27,28).

Bazı istisnalar dışında kronik pankreatit nedeni ancak kısmen bilinebilmektedir. Örneğin; insan ve hayvanlarda aşırı alkol kullanımı tek başına kronik pankreatite neden olmamaktadır. Yani, alkolik pankreatit gelişmesinden önce bazı genetik ve çevresel faktörlerin var olması gerekmektedir. Aynı şekilde CFTR geni ya da SPINK1 mutasyonları gibi genetik faktörler de tek başına kronik pankreatite yol açmamaktadır, bu mutasyonları taşıyanların sadece küçük bir kısmında pankreatit gelişmektedir. Tablo 2.1' de listelenmiş olan risk faktörlerinin sınıflandırması, bir hastada pankreatit gelişimi ile en fazla ilişkide olan faktörleri göstermektedir.

2.2.2 Kronik Pankreatitte Klinik

Kronik pankreatitte, süregelen inflamasyon sonucunda oluşan yapısal değişiklikler nedeniyle ekzokrin ve endokrin fonksiyonlarda yetersizlik gelişir. Bu durum, hastaların abdominal ağrı ve sindirim bozukluklarından ya da her ikisinden şikayetçi olmalarının temel nedenidir. Ağrı genellikle kronik pankreatitin temel özelliği olmasına rağmen, hastalar arasında ortaya çıkış şekillerinde değişkenlik görülmektedir. Klasik olarak ağrı epigastriumda yerleşmiştir ve sırta yayılır. Oral alım, bulantı, kusma ile ilişkilidir ve öne doğru eğilerek oturmak ile rahatlama gösterir.

Pek çok hastada bu klasik ağrı şekli ile karşılaşılmaz, bu nedenle kronik pankreatit karın ağrısının ayırıcı tanısında yer almalıdır. Ancak, ağrı tedavisi bu hastalarda alkol aşırı kullanımı, narkotik bağımlılığı ve fizyolojik faktörler nedeni ile güçlük göstermektedir (29).

Tablo 2.1 Kronik pankreatit ile ilişkili risk faktörleri: TIGAR-O sınıflandırma sistemi.

Toksik- metabolik	Otoimmün
Alkol Sigara Hiperkalsemi <i>Hiperparatiroidizm</i> Hiperlipidemi Kronik böbrek yetmezliği (KBY) İlaçlar (<i>fenasetin kullanımı</i>) Toksinler	İzole otoimmün Sendromik otoimmün pankreatit <i>Sjögren sendromu ile ilişkili</i> <i>İnflamatuvar barsak hastalığı ile ilişkili</i> <i>Primer biliyer siroz ile ilişkili</i>
İdiyopatik	Rekürren ve ciddi akut pankreatit
Erken başlangıçlı Geç başlangıçlı Tropikal <i>Tropikal kalsifik pankreatit</i> <i>Fibrokalkülöz pankreatik diyabet</i> Diğer	Postnekrotik Rekürren akut pankreatit Vasküler hastalıklar/iskemi Radyasyon sonrası
Genetik	Obstruktif
Otozomal dominant <i>Katyonik tripsinojen (kodon 29 ve 122)</i> Otozomal resesif <i>CFTR mutasyonu</i> <i>SPINK1 mutasyonu</i> <i>Katyonik tripsinojen (kodon 16,22,23)</i> <i>$\alpha 1$ antitripsin eksikliği</i>	Pankreatik divisum Oddi sfinkter bozuklukları Kanal obstruksiyonu Periampullar duodonal duvar kisti Posttravmatik pankreatik kanal skarları

Hastaların yaklaşık %20' sinde ise kronik pankreatit endokrin ve ekzokrin yetmezlik ile kendini göstermektedir (30). Ekzokrin yetmezlik, sindirim bozukluğu nedeni ile steatore, diyare ve kilo kaybına yol açar. Tipik olarak steatore protein eksikliklerinden önce görülür. Yağda çözünebilen vitaminler ve kobalamin malabsorbsiyonu görülebilir, ancak klinik olarak anlamlı vitamin eksiklikleri ile nadir karşılaşılır (31).

Bazı kronik pankreatit hastalarında glukoz intoleransı görülebilir, fakat aşikar diyabet hastalığının ancak geç döneminde meydana gelmektedir. Kronik kalsifiye hastalığı olanlar özellikle erken dönemde kalsifikasyon gelişenlerde, kronik non-kalsifiye hastalığı olanlara oranla daha fazla aşikar diyabet gelişmektedir. Yine tip 1 ve tip 2 diyabet için aile hikayesi olanlarda diyabet daha fazla görülmektedir. Bu durum altta yatan bir pankreas rezervinde azalmaya ya da insulin yanıtınlığına işaret etmektedir. Kronik pankreatit zemininde gelişen diyabet genellikle insülin kullanımını gerektirmektedir. Fakat, beta hücrelerinin yanı sıra alfa hücrelerinde de kayıp olması nedeni ile glukagon üretimi de azalmıştır, sonuçta hipoglisemi riski artmıştır.

2.2.3 Kronik Pankreatitte Tanı

Kronik pankreatit tanısı laboratuvar çalışmaları ve görüntüleme yöntemleri normal olabileceği için güç olabilir. Ek olarak, pankreatik karsinoma hastalarında kronik pankreatit düşündüren semptomlar bulunabilir.

Pankreatik fonksiyon testleri:

Sekretin - kolesistokinin ya da Lundh test diyeti ile uyarı sonrasında duodenal içeriğin aspirasyonu ve değerlendirilmesi pankreas ekzokrin yetmezliği için altın standart test olarak kabul edilmektedir. Dinamik testler için eleştiri noktası, bu testlerden anormal sonuçlar elde edene kadar kronik pankreatitin klinik ve radyolojik olarak aşikar duruma gelmesidir. Dinamik testlerin tanıda rolü, ekzokrin fonksiyonlarda hafif kayıp nedeni ile pankreasta minimum değişiklik bulunduğu düşünülen hastalarda, pankreas hasarının henüz görüntüleme yöntemleri ile tespit edilemediği durumların ortaya konmasıdır. Bu testlerin standardizasyonu zor olduğu için büyük merkezler dışında kullanımları sınırlıdır.

Bentromid, gaytada yağ tayini ve gaytada elastaz, kimotripsin gibi pankreatik enzimlerin tespiti gibi invaziv olmayan testlerin kullanımı, örnek toplama güçlüğü, erken kronik pankreatitte sensitif olmamaları ve yanlış pozitif sonuç verebilmeleri nedeni ile sınırlıdır.

Pankreas endokrin yetmezliği hastalığın geç döneminde görülür, bu nedenle açlık kan şekeri ölçümü ve glukoz tolerans testi klinik olarak anlamlı değildir.

Tablo 2.2 Kronik pankreatit tanısında kullanılan yöntemler (22).

1. İndirekt testler	2. Direkt testler
a. Serum tripsinojen	a. Sekretin stimlasyon testi
b. Gaytada elastaz veya kimotripsin	b. Lundh testi
c. Gaytada yağ miktarı	c. Bentromid testi
e. Radyoloji / batin grafisi	
f. Ultrasonografi / endosonografi	3. Rutin laboratuvar testleri
g. Abdominal BT / MRI / ERKP / MRKP	
i. Doku tanısı	4. Pankreas fonksiyon testleri
k. Genetik alışmalar	

Tablo 2.3 Tanıda kullanılan bazı testlerin sensitivite/spesifite oranları(22).

Tanısal test	Sensitivite (%)	Spesifite (%)
Abdominal ultrasonografi	48-90	75-90
BT	56-95	85-90
ERKP	68-93	89-97
Endoskopik ultrasonografi	88-100	90-100
Fekal elastaz	50-93	62-93
Pankreolauril testi	70-82	70-87
Sekretin-serulein testi	80-90	90-95

Görüntüleme yöntemleri:

İn vivo olarak histolojik analiz yapacak doku elde etmenin güçlüğü nedeni ile kronik pankreatit tanısı ekzokrin fonksiyon testleri olsun ya da olmasın genellikle görüntüleme yöntemleri ile konulmaktadır. ERKP hastalığın tanı ve evrelemesi amacı ile altın standart olarak kabul edilmektedir. Çeşitli serilerdeki %75-95 sensitivite ve %90 üzerinde spesifitesi ile son 30 yıl içerisinde kronik pankreatit tanısında en duyarlı görüntüleme yöntemidir (32). Ancak, invazivdir ve önemli derecede morbidite (%3-40) ve mortalite (%0.1-1) riski taşıtmaktadır. Pek çok durum için manyetik rezonans kolanjiopankreatografi (MRKP), ERKP için kullanışlı bir alternatiftir.

Manyetik rezonans teknolojisi ile pankreatik kanal anatomisi ve peripankreatik alanda sıvı birikimi T2 ağırlıklı imajlarda değerlendirilebilir kontrast madde kullanımına bağlı olmaksızın pankreas parankimi incelenebilir (33).

MRKP' nin kalite sensitivite ve spesifitesi, sadece tarayıcının tipine bağlı olarak değil, aynı zamanda radyoloğun ilgi ve becerisine bağlı olarak merkezler arasında büyük farklar göstermektedir. Günümüzde pek çok klinisyen seçilmiş vakalarda MRKP' yi ERKP' nin alternatifi olarak kullanmaktadır.

Endoskopik ultrason, kronik pankreatitte sensitif bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır. Wiersema ve ark. ultrason ile tespit edilen pankreatik duktal ve parankimal anormallikleri klinik, laboratuvar ve ERKP bulguları ile karşılaştırmıştır. Ultrason ile tespit edilebilen sekiz özellikten üç ya da daha fazlasının varlığı endoskopik ultrasonun tanı için sensitivitesini %86, spesifitesini %86 ve güvenilirliğini %86 olarak göstermektedir (34).

Bilgisayarlı tomografinin (BT) kronik pankreatitte sensitivitesi %75-90' dır. Özellikle fokal pankreatik genişleme, parankim atrofisi, kalsifikasyon, pankreatik duktal dilatasyon ve psödokist tespitinde faydalıdır. BT aynı zamanda portal, splenik ven trombozu, gastrik varisler, dalak büyümesi, sıvı birikimi ve safra obstruksiyonu gibi komplikasyonları da gösterebilmektedir. Batın ultrasonu ucuz ve kolay ulaşılabilir olduğu halde hastalığın erken dönemlerinde sensitif değildir. Ancak sıvı birikimi, psödokist oluşumunun gösterilmesi için mükemmel bir yöntemdir ve bunlar ultrason eşliğinde aspire edilebilirler (32).

2.2.4. Kronik Pankreatitte Tedavi

Kronik pankreatitte tedavi esasları; ağrı kontrolünün sağlanması, komplikasyonların önlenmesi, pankreas endokrin-ekzokrin fonksiyonlarının korunması, replasman tedavisi, sosyal /mesleki rehabilitasyon, yaşam kalitesinin iyileştirilmesi olarak sınıflandırılabilir. Ortak görüş bu hastaların yaşam süresinin kısa ve kalitesinin düşük olduğu üzerinedir. Genellikle, alkol alımı ilk ataktan sonra kesilirse pankreas hasarının ilerlemediği, belirgin

histolojik hasar oluştuktan sonra kesilirse ise ağrı ve atak nüksünde azalma olduğu kabul edilmektedir (35).

Malabsorbsiyon tedavisi:

Steatorenin kontrolü tam olarak sağlamasa da azaltılabilir ve hastaların yağ emilimleri uygun bir seviyeye arttırılarak kilo artışı sağlanabilir. Pankreatik lipaz seviyeleri %10 altına düşene kadar hastalarda steatore görülmemektedir. Bu nedenle, steatore tedavisinin temelini, çoğunlukla domuz kaynaklı olarak elde edilen lipaz ile replasman yapılması oluşturmaktadır.

Ağrı kontrolü:

Ağrının patogenezi halen tam olarak anlaşılamamıştır, ancak perinöral inflamasyon, pankreatik kanal ve parankiminde basınç artışı ve anormal feedback mekanizması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ek olarak, kronik pankreatitte psödokist, duodonal obstruksiyon, kanal obdtruksiyonu gibi komplikasyonlar ağrıyı şiddetlendirebilmektedir. Son olarak da bu hastalarda yüksek oranda motilite bozukluğu mevcuttur ve narkotik analjezik kullanımı ile şiddetlenebilmektedir.

Her ne kadar güç olsa da hastaların tedavisinde narkotik analjezik kullanımından kaçınılmalıdır. Maalesef, hastalar arasında narkotik bağımlılığı yaygın olarak karşılaşılmaktadır. Başlangıçta hastalar, asetaminofen ve steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar içeren bir rejim ile tedavi edilmelidir. Bundan sonra, eğer gerekli olursa tradamol ya da propoksifen gibi analjeziklerle desteklenmelidir. Narkotiklerin kullanımı tipik olarak sadece klinik tabloyu karıştırır ve gastropareziyi şiddetlendirir.

Pankreatik enzimler:

Pankreatik proteazların ekzojen olarak verilmesinin amacı, intraduedonal serin proteazları üzerinden pankreatik ekzokrin sekresyonunun feedback inhibisyonudur. Bir grup hastada pankreas sürekli olarak kolesistokininin uyarısı altındadır (36). Proksimal ince barsaklarda yerleşmiş olan serin proteazlar tarafından yıkılan bir kolesistokinin serbestleştirici peptid tespit edilmiştir. Kronik pankreatit hastalarında proteaz aktivitesi azalmıştır, bu nedenle sonuçta pankreatik stimulasyona neden olan bu serbestleştirici

peptidi inaktive etme yeteneği azalmıştır. Ekzojen proteazlar bu patofizyolojik mekanizma ile pankreasın dinlenmesine yardımcı olurlar. Feedback inhibisyonu bu sayede pankreası dinlendirerek ağrıyı hafifletmek için ekzojen proteazlar serin proteazlar ve kolesistokinin peptidlerinin bulunduğu proksimal ince barsağa verilmelidir.

Oktreotid:

Bir somatostatin analoğu olduğu için pankreatik sekresyonu inhibe eder ve kolesistokinin seviyesini anlamlı derecede azaltır. 1993 yılında çok merkezli yapılmış olan bir çalışmada 200 mg oktreotidin plasebodan üstün olduğu gösterilmiştir (37).

Kolesistokinin antagonistleri:

Kolesistokinin hem gastrointestinal kanalda hem de santral sinir sisteminde bulunmaktadır. McCleane, morfine yanıtı azalmış olan hastalarda, bir non-spesifik kolesistokinin antagonisti olan proglumid kullanmıştır. Sonuçta, morfin toleransı düzelmiş, etkilerini arttırmış ve hatta tek başına analjezi sağlamıştır (38). Sonuçlara dayanarak yazar proglumidin analjezik etkisini kolesistokinin seviyelerini arttırarak yaptığı yorumuna ulaşmıştır. Benzer şekilde Japonya' da yapılan bir çalışmada kolesistokinin-A reseptör antagonisti, loxiglumid çeşitli dozları kullanılmıştır ve dört hafta sonunda 1200 mg ile plaseboya oranla %52 oranında klinik düzelme gözlenmiştir (39).

Sinir blokajı:

Maalesef, medikal olarak kronik pankreatit hastalarında ağrının kontrolü çok başarılı değildir. Endoskopik US ile ölyak blok kronik pankreatitte ağrı tedavisinde iyi tolere edilen güvenli bir yöntemdir. İnvaziv olması ve sadece kısa dönem faydası nedeni ile bu tedavi yöntemi optimal tıbbi yaklaşım ile başarılı olunamamış hastalar için düşünölmelidir.

Endoskopik tedavi:

ERKP ile pankreatik kanalın dekompresyonunun ağrıda azalma sağladığı bulunmuştur (40). Bu yaklaşımın arkasındaki prensip Oddi sfinkteri disfonksiyonu ya da pankreatik kanal striktürlerinde görölen duktal basıncı azaltmaktır.

Endoskopik pankreatik tedavinin rolü gelişme göstermektedir. Optimal tıbbi tedavide başarısız olunan hastalarda cerrahiden önce düşünülmelidir, pankreatik kanal yapışıklıklarının üçte ikisi bu tedaviden fayda görmektedir.

Cerrahi:

Optimal tıbbi ve endoskopik tedaviye rağmen kalıcı ağrının devam ettiği hastalarda cerrahi girişim endikasyonu mevcuttur.

Pankreatektomi ve otolog adacık hücre transplantasyonu:

İlk otolog adacık hücre nakli 1977 yılında ailesel kronik pankreatitli 39 yaşında bir hastaya yapılmıştır (41). 2001 uluslararası adacık hücre transplantasyon kayıt verilerine göre 1990-2001 yılları arasında sadece 140 vakada pankreatektomi sonrasında otolog adacık hücre nakli gerçekleştirilmiştir. Güncel yaklaşım pankreatektomi sonrasında portal venden izole adacık hücre infüzyonu ile ağrı ve insulin ihtiyacını azaltmak şeklindedir.

Birkaç çalışmanın sonuçlarında da görülebileceği gibi ağrı tedavisinde sonuçlarda büyük farklılıklar mevcuttur. İnatçı ağrısı olan hastalarda tıbbi, endoskopik, ve cerrahi seçeneklerin başarılı olmadığı hastalarda son seçenek olarak düşünülmelidir. Bu hasta gruplarında kullanımı tartışmaya açıktır ancak, insulin bağımlılığı direkt olarak nakledilen adacık hücre miktarı ile ilişkilidir. Bu nedenle, bu tedavi yönteminden fayda gören hastalar kronik pankreatiti cerrahi öncesi olan ve adacık hücre yetmezliği olmayan hastalardır. Bu işlemin rolü halen açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir, fakat mevcut çalışmalarda adacık hücre nakli duktal dekompresyon cerrahisi ya da parsiyel pankreatik rezeksiyon için alternatif olarak görülmektedir.

2.2.5 Kronik Pankreatit Fizyopatolojisi

Kronik pankreatit gelişiminde günümüze kadar öne sürülmüş olan teoriler şu şekilde sıralanabilir;

1. Toksik - metabolik teori
2. Duktal obstruksiyon teorisi
3. Nekroz-fibroz teorisi

4. Primer kanal hipotezi
5. Oksidatif stres teorisi
6. SAPE hipotezi

Bunlardan ilk 5 teorinin hiçbirisi kronik pankreatit gelişimini tam olarak açıklayamamaktadır. Bu nedenle yakın zamanda ortaya atılmış olan SAPE hipotezi oldukça fazla destek görmektedir. Ancak SAPE hipotezinin de eksik yönleri bulunmaktadır.

Toksik - metabolik teori:

Alkol kullanımı kronik pankreatit etiyolojisinde en fazla suçlanan faktördür. Alkol hücresel metabolizmada bir değişiklik ile direkt olarak asiner hücrelere toksik etki göstermektedir (42). Asiner hücre sitoplazmalarında yağ birikimi ile yağlı dejenerasyon, hücresel nekroz ve sonuçta yaygın fibroza neden olur. Pankreasta etanol metabolizması yan ürünü olan serbest yağ asidi etil esterleri toksik-metabolik değişimde anahtar rol oynamaktadır. Bu model ile alkolik karaciğer hastalığı arasında benzerlikler de mevcuttur.

Bu teoriyi destekleyen gözlemler:

1. Kronik pankreatit olmayan alkoliklerde asiner hücrelerde sitoplazmik yağ damlacıkları mevcuttur. Elektron mikroskopisinde, zimojen granüllerinde azalma ve mitokondri boyutunda artma gibi subsellüler değişimler gözlenir.
2. Alkol pankreatik asiner hücrelerde oksidatif ve oksidatif olmayan mekanizmalarla metabolize edilir (43).
3. Yağ asidi etil esterleri birikerek yağlı pankreasa neden olabilirler (44).
4. Yağ asidi etil esterlerinin serbest yağ asitlerine hidrolizi kardiyak dokuda mitokondriyal disfonksiyona neden olur ve aynı şekilde diğer dokularda da metabolik değişimleri indükleyebilir (45).

Duktal obstruksiyon teorisi:

Kronik pankreatit, pankreas kanallarının lümeninde başlar. Alkol, protein plakları ve taş oluşturmak üzere pankreas sıvısının litojenitesine etki eder. Taşlar ile duktal epitel hücrelerinin sürekli teması, ülser ve skar

oluşumuna, sonuçta da obstruksiyon, staz ve daha fazla taş oluşumuna neden olur. Obstruktif sürecin sonucu olarak, atrofi ve fibroz gelişir.

Bu teoriye göre alkol ilk olarak pankreatik sıvının özelliklerini taş oluşturmak üzere değiştirmelidir. Alkol pankreatik sıvı miktarını değiştirerek, sitrat miktarını azaltarak kalsiyum sitrat oranını artırır ve kristal oluşumunu tetikler. Pankreatik sıvı heksozamin miktarı ile ilişkili olarak viskozitesini artırır.

Alkole bağlı olarak değişen ekzokrin fonksiyonların yanı sıra, pankreatik taş proteini (pancreatic stone peptide PSP) ve glikoprotein-2 (GP-2) gibi spesifik proteinler de taş oluşumuna katılmaktadır.

Ancak, tüm kronik pankreatit vakalarında, özellikle de erken vakalarda protein plakları bulunmamaktadır. Taş oluşumunun pankreatik fibrozu tetiklediğini mi yoksa takip mi ettiği henüz kesinleştirilememiştir (46).

Nekroz-fibroz teorisi:

Akut pankreatit ataklarında, inflamasyon ve nekroz peritubular alanlarda skar oluşumuna neden olur. Skar oluşumu duktuslarda obstruksiyona ve staza sonuçta da taş oluşumuna neden olur. Ciddi obstruksiyon ise atrofi ve fibroz ile sonuçlanır.

İyileşmekte olan akut pankreatitte hafif perilobular fibroz ve ilerlemiş kronik pankreatitte duktal bozulma ve belirgin fibroz mevcuttur (47,48). Bu patolojik farklılıklar, tekrarlayan akut pankreatit ataklarını takiben açığa çıkan aşamalı bir fibroz gelişimi varlığını öne sürmektedir.

Primer kanal hipotezi:

Kanal yıkımına neden olan primer patogenetik faktör kanal epiteline karşı bir immunolojik ataktır ve kanal yapısının inflamasyonu ve skarına neden olmaktadır. Buna göre kronik pankreatit primer sklerozan kolanjit (PSK) gibi otoimmün “kanal-hasarlayıcı” bir hastalık olarak kabul edilmektedir (49).

SAPE (Sentinel Acute Pancreatitis Event) hipotezi:

Son yıllarda kronik pankreatitte fibrojeniz mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalarda alınan sonuçlar ile fibroz gelişimi altında yatan moleküler ve hücresel olaylar üzerine odaklanılmaya başlanmıştır.

Pankreatik Stellat Hücre (PSH); Vitamin A depolayan bu hücreler fibrogenizde temel rol oynamaktadırlar. İnaktif formları üçgen şeklinde, perivasküler alanda yerleşmiş olan, lipid içeren hücrelerdir (50). Aktive oldukları zaman içerlerindeki lipid damlacıkları kaybolur, periasiner alana göç ederek fibroblast benzeri bir görünüm alırlar. Yerleştikleri bu yeni alanda spesifik proteinler eksprese ederler, tip 1ve tip 3 kollajen ile fibronektin sentezleme yeteneği kazanırlar (51) (Tablo 2.4).

Alkol ve metaboliti olan asetaldehid *in vitro* koşullarda izole PSH' leri direkt olarak aktive etmektedir. Oksidatif stres ise bağımsız olarak PSH' leri aktive edebilmektedir. PSH tarafından kollajen üretimi ortamda oksidatif stres göstergesi olan lipid peroksidasyon ürünlerinin varlığı ile ilişkilidir (52).

TGF- β_1 akciğer, karaciğer, böbrek gibi diğer organ sistemlerinde fibrogenizde temel rol oynamaktadır. Normal insan pankreasında çok az miktarda TGF- β_1 ekspresyonu mevcut olduğu halde, kronik pankreatit örneklerinde artmış ekspresyon dikkati çekmektedir (53).

TGF- β_1 nekroz- fibroz teorisini destekler biçimde kronik ve akut pankreatit arasında bir köprü oluşturmaktadır. Deneysel akut pankreatit modellerinde TGF- β_1 ekstrasellüler matriks yeniden düzenlenmesi ve iyileşmede önemli bir düzenleyicidir. Ekzojen olarak TGF- β_1 verilmesi ile deneysel tekrarlayıcı akut pankreatitte fibroz oluşumunu arttırmaktadır. TGF- β_1 yanı sıra IL-10, interferon-gamma (IFN- γ) da pankreas fibrojenizine katılmaktadır. Özetle pankreasta fibroz patogenezi:

1. Kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu (mononükleer hücreler, makrofajlar)
2. Bu hücreler tarafından spesifik sitokinlerin (özellikle TGF- β_1) salınımı
3. Alkol ve oksidatif stres gibi bağımsız uyarılar yanı sıra bu sitokinlere PSH yanıt
4. Aktive olmuş PSH tarafından kollajen depolanması süreçlerini içermektedir.

Kronik pankreatit patogenezinde fibroz gelişiminde yer alan teoriler şekil 2.1’ de özetlenmiştir.

Tablo 2.4 Pankreatik stellat hücre fenotip özellikleri

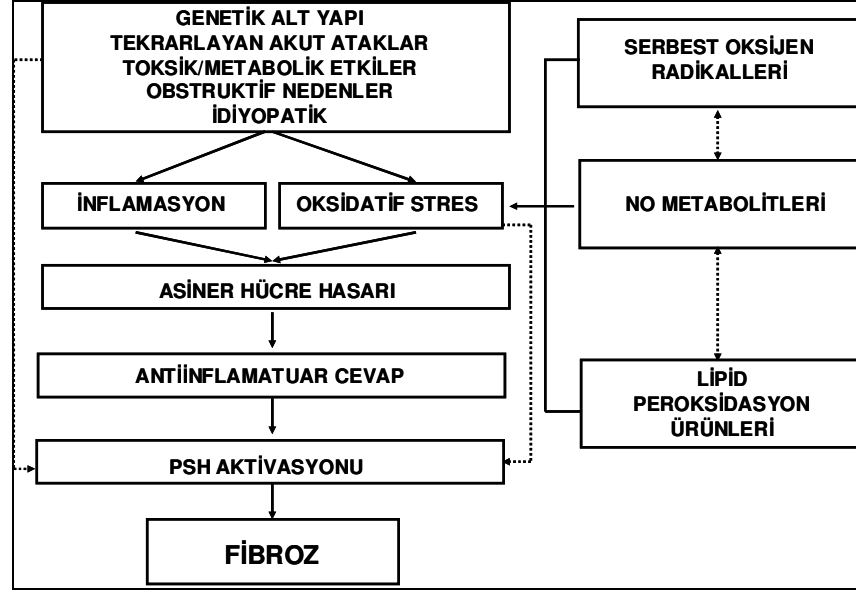
İnaktif Fenotip
Periasiner ve interlobuler yerleşim Sessiz hücreler Vimentin, desmin ve GFAP eksprese eder Çok sayıda perinukleer retinoid içeren yağ damlacıkları Düşük mitotik indeks ECM sentezleme kapasitesi düşüktür
Aktif Miyofibroblast Benzeri Fenotip
Kollajen ve fibrinojenle birlikte fibrotik alanlarda bulunur Alfa- smooth muscle aktin (α -SMA) pozitifdir Kaba endoplazmik retikuluma sahiptir Yağ damlacıkları yoktur Yüksek mitotik indekse sahiptir PDGF reseptörleri, TGF- β reseptörleri ve ICAM-1 eksprese ederler Kollajen tip I ve III, fibronektin, MMP (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 ve MT-1 MMP) sentez kapasiteleri yüksektir Büyüme faktörleri (PDGF, FGF, TGF beta1 ve CTGF) sitokinler (IL-1 β , IL-6, IL-8, RANTES, TNF- α ve MCP-1) ve endotelin-1 üretirler

2.2.6 Kronik Pankreatit ve Oksidatif Stres

Normal metabolizmanın ya da patolojik olayların sonucunda ortaya çıkan serbest radikallerin etkileri “oksidatif stres” olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller, biyolojik moleküller ile oldukça reaktif olduklarından, “reaktif oksijen ürünleri” veya “serbest oksijen radikalleri” (SOR) olarak adlandırılmaktadırlar.

Fizyolojik koşullarda SOR’ nin organizmaya zararlı olan etkileri antioksidan sistemler tarafından nötralize edilmektedir. Patolojik koşullarda ise SOR aşırı miktarda ortaya çıkmaktadırlar, antioksidan sistemlerin dengeleme kapasiteleri aşıldığında ise oksidasyon dengesi değişmekte ve

oksidatif stres oluşmaktadır. Yeni oluşan bu durum ise ciddi hücresel hasarlara neden olabilmektedir (48,54,55).



Şekil 2.1. Kronik pankreatitte fibroz gelişimi. (Taşçı, İ. Pancreas, 2007 In press)

Kronik pankreatit patogenezinde oksidatif stresin rol oynayabileceği hipotezi ilk kez Rose ve arkadaşları tarafından 1986 yılında ortaya atılmıştır (56). Bunu takip eden çalışmalarda ise kronik pankreatit hastalarında antioksidan kapasitenin oksidatif stresle başa çıkmakta yetersiz kaldığı gösterilmiştir (57-60).

Akut ve kronik pankreatitte erken dönemde pankreas dokusunda nötrofil, lenfosit ve monosit infiltrasyonu gerçekleşir. Pankreatit sürecinde görülen SOR üretiminde artıştan asiner, hücrelerin yanı sıra göç etmiş olan lökositler de sorumludur (61). Bu hücreler tarafından üretilen SOR, tek başlarına pankreatit oluşturmaya yeterli değildirler (62-64). Ancak pankreatit patogenezi ve gelişiminin önemli düzenleyicileridirler (65,66). 2002 yılında Yaşar ve ark. tarafından gerçekleştirilen deneysel akut nekrotizan pankreatit modelinde; doku malondealdehid (MDA) düzeyi artışı ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi azalması yönündeki bulgular da, patogeneizde oksidatif stresin rolünü destekler niteliktedir (67).

Kronik pankreatit etiyolojisinde en önemli etmen olan alkol üzerine Norton ve ark. tarafından yapılan deneysel çalışmada, oksidatif stres artışının histolojik bulgulardan önce oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Oksidatif stres artışının inflamatuvar yanıtın bir parçası olmaktan çok, başlatıcı olay olduğu yaklaşımı yapılmıştır (65). Benzer sonuçlar Reinheckel ve ark. tarafından yapılan çalışmada da elde edilmiştir (68). Urunuela ve ark. kanal obstruksiyonu ile oluşturulan akut pankreatit modelinde ilk olarak SOR artışının, daha sonra glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitesinde azalmanın ortaya çıktığını ve bunu lipid peroksidasyonunun (MDA artışı) izlediğini göstermişlerdir (69).

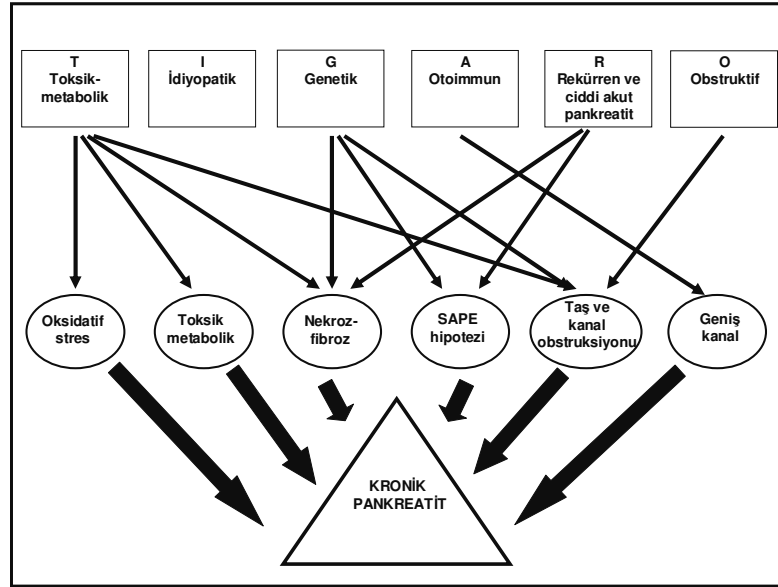
SOR' nin hücre içindeki ana hedefi, sitokin indüksiyonunun anahtar düzenleyicisi olan, pleiotropik transkripsiyon faktörü nükleer faktör kappa-B (NF- κ B)' dir (70). NF- κ B homo-(p50) ve heterodimerler (p50/65) halinde hücre DNA' sına bağlanarak birçok stres ve erken yanıt genlerinin aktivasyonuna neden olmaktadır. NF- κ B, sitoplazmada inhibitör I κ B'ler ile inaktive formda bulunmaktadır. Bir uyarı sonrasında; I κ B kinaz (IKK) aktivasyonu gerçekleşmekte ve aktive IKK, I κ B-serin-32 fosforilasyonunu sağlamakta, fosforile-I κ B, NF- κ B'den ayrılarak NF- κ B aktivasyonuna neden olmaktadır. Altavilla ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı çalışma; NF- κ B ile TNF- α ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi oldukça açık biçimde ortaya koymuştur (71).

SOR' nin kronik pankreatitte pankreas inflamasyonuna katkıda bulunduğu sonucundan köken alarak, kronik pankreatitte antioksidan tedavi uygulanan iki insan çalışması mevcuttur. Uden ve ark. tarafından 1990 yılında gerçekleştirdikleri 30 hafta süreli, çift kör plasebo kontrollü çapraz çalışmada kronik pankreatitli 20 hastaya antioksidan olarak organik selenyum, β -karoten, vitamin C, vitamin E ve metiyonin verilmiştir(12). Sonuçta tedavi verilen hastaların hiçbirisinde ağrı oluşmazken plasebo verilen 20 hastanın 6' sında ağrı gelişmiştir.

2000 yılında 10 hastalık küçük bir çalışmada 1 yıl süre ile antioksidan tedavi verilmiş (metiyonin, β -karoten, vitamin C, vitamin E ve organik selenyum) ve hastaların ağrı skorlarında belirgin azalma gözlenmiştir (72).

Ancak bu iki çalışmada da örneklem boyutları küçük, metodolojileri tartışmalıdır. Bu nedenle sonuçlar ikna edici olmaktan uzaktır.

Ne yazık ki, yeni ortaya atılan SAPE hipotezi de dahil olmak üzere hiçbir teori kronik pankreatit patogenezi açıklayamamaktadır. Her bir teori belli etiyolojik faktörler ile kuvvetle desteklenebilmektedir (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. Kronik pankreatitte etiyopatogenez.

2.3. N-Asetil Sistein

NAC, bir indirgenmiş glutatyon (GSH) kaynağıdır ve temelde mukolitik amaçlı olarak 30 yılı aşkın süredir klinikte kullanılmaktadır. Mukolitik etkilerinin dışında oksidatif stres ya da azalmış GSH ile karakterize HIV enfeksiyonu, kanser ve kalp hastalıklarında çalışılmış ve olumlu sonuçlar bildirilmiştir. Karaciğer koruyucu etkileri nedeni ile asetaminofen zehirlenmelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Kimyasal ve farmakokinetik özellikler:

NAC, kimyasal formülü $C_5H_9NO_3S$ olan bir tiyol (sülfidril içeren) bileşiğidir. Oral alımı takiben hızla emilir; ancak ince barsak ve karaciğerde yüksek ilk geçiş etkisi nedeni ile protein peptid zincirlerine dönüşüm ile çeşitli NAC metabolitleri oluşur. Sonuçta, çok az miktarda sağlam NAC molekülü plazma ve nihayetinde dokulara ulaşır (73).

Oral olarak uygulanan NAC' in sadece %3' ü feçes ile atılmaktadır, yani NAC ve metabolitlerinin hemen tamamı emilime uğramaktadır. Plazmada pik konsantrasyonuna oral uygulamayı takiben bir saatten daha kısa sürede ulaşmaktadır (73,74). Serbest halde bulunan NAC için yarılanma ömrü yaklaşık 2,5 saattir ve uygulamadan 10-12 saat sonrasında plazmada tespit edilemez seviyelere düşmektedir.

NAC' in metabolik aktivitesinden SH grubu sorumlu iken asetillenmiş amino grubu, molekülü oksidasyona karşı daha dayanıklı hale getirmektedir. Deneysel çalışmalarda, tiyol içeren bileşiklerin çoğu gastrik sıvıda anstabil hale gelmektedir. Ancak intestinal sıvıda NAC' in sadece %16' sı oksidize iken diğer moleküller için bu değer % 75 -100' dür (75).

Araştırmacılar, sağlam bir NAC molekülünün biyoyararlanımını % 4-10 olarak tespit etmişlerdir. Düşük biyoyararlanımın en önemli sebepleri, muhtemelen proteinlere disülfid bağlanması ve intestinal mukoza ve lümende NAC' in deasetilasyonudur (73,74,76).

Etki mekanizması:

Oral olarak uygulanan NAC' in faydalı etkilerinin büyük çoğunluğunun hücre dışı sistini, sisteine indirgeme yeteneğine ya da SH metabolitlerinin kaynağı olmasına bağlanmaktadır. Bir SH grubu kaynağı olarak NAC, GSH sentezini stimule edebilir, glutatyon-S-transferaz aktivitesini ve detoksifikasyonu arttırabilir ve direkt olarak SOR ile etkileşime girebilir.

In vivo ve *in vitro* çalışma sonuçları NAC' in hücre içinde GSH biyosentezini arttırdığını göstermiştir. Hücre kültürü çalışmalarında, NAC kültür ortamında hücresel GSH sentezi amacı ile sistin alımını arttırmaktadır (77). *In vivo* olarak NAC eritrosit, karaciğer ve akciğer hücrelerinde hücre içi GSH seviyelerini arttırmakta ve deneysel olarak azaltılmış olan GSH seviyelerini düzeltmektedir (78). Deneysel çalışmalarda NAC, bir GSH öncül molekülü olarak davranarak ve hücre içi GSH konsantrasyonlarını arttırarak sitotoksositeye karşı koruyucu etki göstermektedir (79). Yine hücre içi GSH öncül molekülü olması nedeni ile asetaminofen aşırı dozlarında antidot olarak kullanılmaktadır (80). Yüksek dozda asetaminofen verilmesi sonucunda, sitozolik glutatyon transferaz aktivitesi inhibe olur ve GSH seviyelerini azalır.

Asetaminofen alımından bir saat sonra NAC verilmesi bu iki etkinin de oluşmasını engeller (81). 1997 yılında Bernard ve ark. NAC' in akut solunum sıkıntısı sendromu hastalarında eritrositlerde GSH seviyelerini arttırdığını göstermişlerdir (82).

NAC, biliyer obstrukte ratlarda, GSH konsantrasyonunda azalmayı düzeltir ve sonuçta membran akışkanlığının, katalaz, mitokondriyal SOD ve çeşitli GSH-Px aktivitelerinin anlamlı düzeyde korunmasını sağlar. NAC' in bu etkileri, biliyer obstruksiyonu olan hastalarda karaciğer fonksiyonlarının korunmasında faydalı bir ajan olabilebileceğini göstermektedir (83).

NAC ile *in vivo* tedavi bazı direkt etkili mutajenlerin karaciğer ve akciğerler tarafından detoksifikasyonunu arttırmaktadır. Bu etkisini GSH sentez ve metabolizmasını arttırarak ve mutajenik maddelerin daha toksik bileşiklere biyotransformasyonunu sınırlandırarak gerçekleştirmektedir (84). NAC hepatik ve pulmoner mikrozomlarda sitokrom p-450 konsantrasyonunu etkilemediği halde, NADP indirgenmesi, GSH indirgenmesi ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonuna katılan sitozolik enzimlerin aktivitelerini uyarabilir. Aynı zamanda NAC bazı deneysel koşullarda siklik guanozin monofosfat (cGMP) konsantrasyonlarını da arttırabilmektedir (85).

SOR için savunmada SH gerekmektedir. Dolayısıyla NAC hipoklorik asit için güçlü bir temizleyicidir ve hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksiti indirgeyebilmektedir (13). Hayvan çalışmalarında NAC uzun süreli %100 oksijen uygulamasının akciğerlerde yarattığı toksik etkiye karşı koruyucudur (86).

Klinik Kullanım:

Solunum sistemi: NAC ve metabolitleri sadece eğer bir hastalık nedeni ile ihtiyaç duyulursa akciğer dokusunda konsantre olmaktadırlar (87,88).

Aktive granülositlerde hücre içi GSH depolarını yenileyerek akut solunum sıkıntısı sendromunda koruyucu etki gerçekleştirebilmektedir. NAC uygulaması ile deneysel olarak akciğer ağırlığında artma, alveolar ödem, fibrin birikimi ve plazma viskozitesinin artışının engellendiği gösterilmiştir (89).

Oral NAC kronik bronşitte mukolitik ajan olarak kullanılmaktadır ancak klinik sonuçlar halen tartışmalıdır (90-95).

HIV: HIV pozitif hastalarda genel olarak, düşük sistein ve GSH seviyeleri mevcuttur, ancak terapötik amaçlı olarak NAC kullanımı tartışmalıdır. *In vitro* koşullarda NAC, splenosit proliferasyonunu önler ve mitojenlerin neden olduğu sitotoksiteden lenfositleri korur (96), ve periferik T lenfositlerin immün yanıtlarını artırır. Yine, NAC proteaz inhibitörlerinin neden olduğu T lenfosit mitogenez ve sitokin üretiminin baskılanmasını engeller (97).

Daha ileri çalışmalar gerekli görölse de NAC desteği özellikle düşük GSH seviyesi ve CD4 + hücre sayısı $200 \times 10^6/\text{lt}$ olan HIV pozitif bireylerde tedavi protokolünün önemli bir üyesi olmaya aday gibi görünmektedir.

influenza: NAC uygulaması influenza ile ilişkili semptomları ve influenza benzeri epizodları azaltmaktadır. NAC tedavisi ile semptomların hem sıklığı hem de şiddeti azalmakta ve yatağa bağlı olarak geçirilen süre azalmaktadır (98).

Kanser: Hala başlangıç aşamasında olan çalışma verilerine göre NAC uygulaması bazı tip kanserlerin gelişimi ve seyrini önleyebilmektedir. Elde edilen kanıtlara göre, NAC ile kloramfenikol gibi ilaçların kemik iliğinde yaptığı büyüme inhibisyonu etkileri önlenmektedir. Deneysel olarak geliştirilen intestinal tümörlerin insidansı NAC ile azaltılabilmektedir (99,100).

Kalp hastalığı: NAC uygulamasının kalp hastalıkları ile ilişkili bazı faydalı etkileri mevcuttur. Homosistein ve lipoprotein (a) seviyelerini olumlu yönde etkilemekte, iskemi ve reperfüzyon hasarından korumakta ve nitrogliserin etki özelliklerini arttırmaktadır. Artmış kardiyovasküler hastalık riski göstegesini olan yüksek homosistein ve lipoprotein (a) seviyeleri iki ay süreli NAC uygulaması ile (4 hafta 2 gr/gün, 4 hafta 4 gr/gün) %70 azalma göstermiştir. Hücre kültürlerinde kullanıldığında ise, hücre içerisinde homosistein birikimini azaltmaktadır (101, 102).

Hiperhomosisteinemisinin yaygın olduğu diyaliz hastalarına NAC uygulaması homosistein seviyelerini azaltmıştır (103).

Deneyisel alışmalar ve ilk klinik çalışmalarda NAC' in miyokard enfarktüsüne bağlı iskemi ve reperfüzyon hasarını azaltabildiği gösterilmiştir. Miyokard iskemisi, hücre SH gruplarına azalma ile karakterizedir ve reperfüzyon, oksidatif hasarına neden olabilmektedir. İskemi öncesinde NAC tedavisi GSH ve protein SH seviyelerinde azalma sınırlandırılmaktadır (104).

Reperfüzyon amacı ile streptokinaz ile birlikte NAC verilmesi, daha düşük oksidatif stres ile ilişkilidir ve sol ventrikül fonksiyonlarını tek başına streptokinaz uygulamasından daha etkili olarak korumaktadır (105-108). Horowitz ve ark. tarafından 46 standart tedaviye cevapsız, anstabil anjina pectorisli hastada gerçekleştirilen, randomize çift kör çalışmada nitrogliserin ile birlikte intravenöz NAC uygulaması, miyokard enfarktüsü insidansını azaltmış ancak NAC+ nitrogliserin grubunda ciddi hipotansiyon ile karşılaşılmasıdır (109). Nitrogliserin ve NAC birlikte kullanımı anstabil anjina tedavisinde etkili bir kombinasyondur ancak ciddi yan etkileri bu kombinasyonun klinik kullanımını sınırlandırmaktadır (110)

Sigara: Sigara içimi deneyisel hayvan modellerinde hava yollarında sekretuar hücre sayısını anlamlı derecede arttırmaktadır ancak profilaktik NAC uygulaması sigaranın neden olduğu mukus hücre hiperplazisi ve epitel hipertrofisini inhibe etmekte ve sekretuar hücrelerin normale dönmesi için gerekli süreyi azaltmaktadır (111).

Sigara içenlerde NAC uygulaması bronkoalveolar alanda inflamatuvar hücrelerin aktivitesini pozitif yönde etkilemektedir. Oral uygulanan NAC sigara içimine bağlı alveolar lenfositlerde azalma, alveolar makrofajların fagositoz kapasitelerinde ve lökotrien B4 üretme yeteneklerinde azalmaya karşı etkili olabilmektedir (112,113).

Asetaminofen aşırı dozu: Asetaminofen yüksek dozlarda karaciğer, böbrek, kalp ve santral sinir sistemi hasarı yapabilmektedir. Özellikle 10 gr üzeri dozlarda ölümcül sonuçlara neden olabilmektedir. Karaciğer hasarı, saatler içerisinde, asetaminofenin toksik metabolitlerine oksidasyonu sonunda gerçekleşir. Bu metabolitler karaciğerde hücre içerisinde GSH depolarını azaltarak hasara yol açar. Bu durumda NAC seçilmiş antidottur (114,115).

NAC tedavisinde yan etkiler sık olmasına rağmen ciddi yan etkiler nadirdir. Asetaminofen antidotu olarak kullanıldığında en yaygın yan etkiler; kusma, diyare, cilt reaksiyonları ve baş ağrısıdır.

Diğer zehirlenmeler: Hayvan çalışmalarında akut akrilonitrit intoksikasyonunda inhalasyon sonrasında NAC uygulamasının antidot özellikleri olduğu gösterilmiştir (116).

Özefagusun kostik alkalemlen yaralanmasında, deneysel çalışmalarda NAC ile tedavi edilen hayvanlarda striktür sıklığı ve stenozun ciddiyeti daha az bulunmuştur (117).

NAC uygulamasının altın, gümüş, civa, arsenik, bakır gibi ağır metal zehirlenmelerinde şelasyon yapıcı etkileri bulunduğu da gösterilmiştir. Klinik kullanım için çalışmalar devam etmektedir (118-123)

Toksosite ve yan etkiler: Oral dozları takiben farelerde NAC için LD50 7888 mg/kg ve ratlarda 6000 mg/kg' dan daha fazladır. Hayvan fertilitte çalışmalarında 250 mg/kg dozlarında hiçbir yan etki görülmemiş ve 2000 mg/kg kadar yüksek dozlarda dahi teratojenik etki gözlenmemiştir. Bu çalışmaların hiçbirisinde NAC' in, doğum, fizyolojik gelişme ya da laktasyon üzerine yan etkisi olmamıştır. İnsanlarda gebelerde yapılmış yeterli çalışma olmadığı için sadece kesin endikasyon bulunan durumlarda kullanılmalıdır (124).

NAC intravenöz kullanımı genellikle ciltte sınırlı ürtiker ve / veya anjiyoödem gibi alerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir. Asetominefon toksikasyonu nedeni ile yüksek dozlarda verildiğinde bulantı, kusma, gastrointestinal rahatsızlık hissi, raş, kaşıntı, anjiyoödem, bronkospazm, taşikardi, hipotansiyon ya da hipertansiyon gibi yan etkiler görülebilir (125,126).

Sağlıklı bireylerde NAC 1,2 gr/gün dozlarında, pro-oksidan özellik gösterebilmekte ve GSH miktarını azaltarak oksidize olmuş GSH miktarını arttırabilmektedir. Bu nedenle oksidatif stres artışı olmayan sağlıklı bireylerde NAC kullanımı önerilmemektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Şubat 2005 – Ocak 2006 tarihleri arasında, Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) İç Hastalıkları Bilim Dalı Başkanlığı tarafından, GATA Araştırma ve Geliştirme Merkezi Başkanlığı'nda gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal laboratuvar incelemeleri GATA Biyokimya ve Klinik Biyokimya BD., doku oksidatif stres parametreleri GATA Eczacılık Merkezi Bilimleri, doku immünohistokimyasal ve ışık mikroskopisi incelemeleri GATA Patoloji BD. tarafından yapılmıştır.

3.1 Deney Hayvanları

Çalışmada 240-270 gr ağırlığında 60 adet erkek cins Sprague Dawley rat kullanılmıştır. Ratların ameliyat öncesi ve sonrasında bakımları, steril ameliyathane şartları GATA Araştırma ve Geliştirme Merkezi Başkanlığı tarafından sağlanmıştır. Gerçekleştirilen cerrahi operasyonlarda GATA Araştırma ve Geliştirme Merkezi Başkanlığı'nda görevli cerrahi uzmanı veteriner hekimler, anestezi teknisyeni ve teknik personel eşlik etmişlerdir.

Kullanılan 60 rat dört gruba (n=15) randomize edilmiştir. (Şekil 3.1).

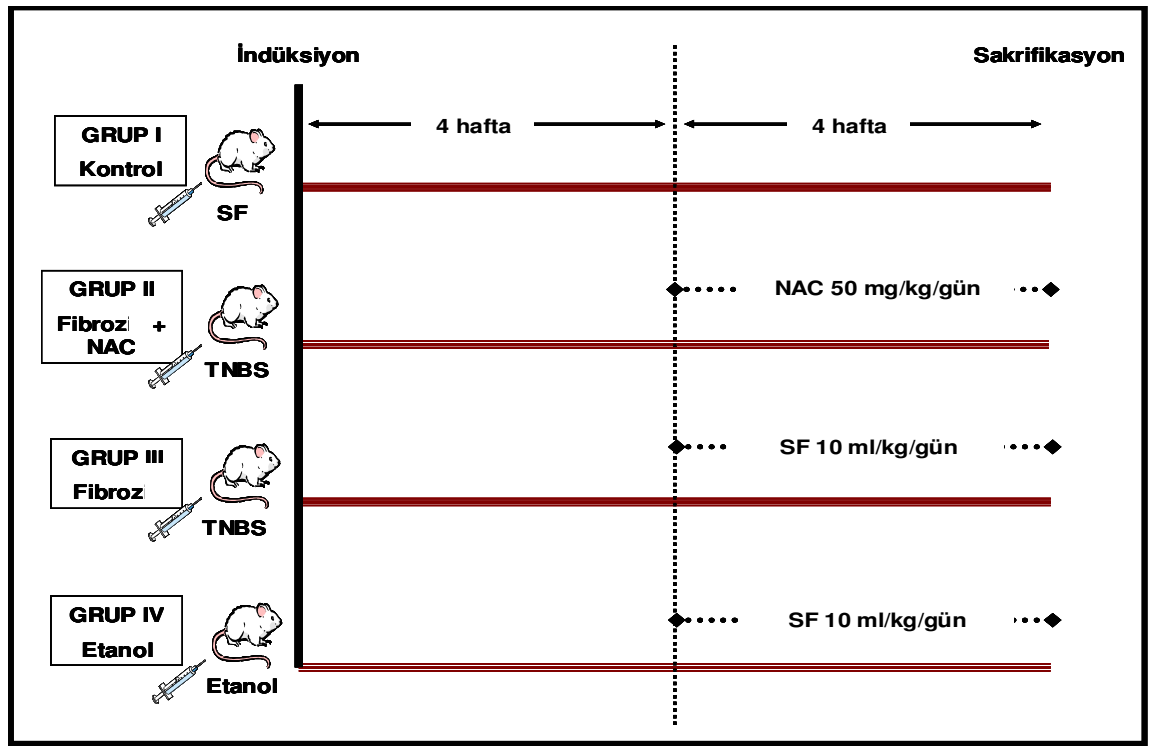
3.2 Çalışma Grupları

Grup I. Kontrol grubuna (sham) (n=15); 0.4 ml serum fizyolojik (SF) rat pankreatik kanalı kanule edilerek yavaş infüzyon ile verilmiştir.

Grup-II. Pankreatik fibroz + NAC tedavi grubuna (n=15); 0.4 ml %2'lik trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS)-fosfat tamponlu salinde (FTS) + %10 etanol, rat pankreatik kanalı kanule edilerek infüzyon ile verilmiştir.

İndüksiyondan 4 hafta sonra, 4 hafta süre ile 50 mg/kg/gün NAC periton içerisine uygulanmıştır.

Grup-III. Pankreatik fibroz grubuna (n=15); 0.4 ml %2'lik TNBS-FTS + %10 etanol, yavaş infüzyon ile rat pankreatik kanalına infüze edilmiştir. İndüksiyondan 4 hafta sonra, 4 hafta süre ile 10 ml/kg/gün salin periton içerisine uygulanmıştır.



Şekil 3.1. Çalışma grupları.

Grup-IV. Etanol grubu (n=15); 0.4 ml %10'luk etanol, yavaş infüzyon ile rat pankreatik kanalına infüze edilmiştir. İndüksiyondan 4 hafta sonra, 4 hafta süre ile 10 ml/kg/gün salin periton içerisine uygulanmıştır.

Tüm ratlar 8 hafta süre sonunda sakrifiye edilmişlerdir.

3.3 Pankreatit İndüksiyonu

Pankreatik fibroz indüksiyonu, erkek Sprague-Dawley ratlarda, Puig-Divi ve arkadaşlarının tanımladığı modelde modifikasyon yapılarak sağlanmıştır (127,128).

Ratlar; steril ameliyathane şartlarında ve hipotermiye neden olmayacak oda ısısında, anestezi indüksiyonunu takiben opere edilmişlerdir. Anterior yaklaşımla ksifoid altı yaklaşık 1 cm' lik cilt-cilt altı kesisi ile batın açılmıştır. Duodenum nazıkçe palpe edilerek batın dışına alınmış, 0.2 cm' lik yumuşak polietilen kateter ile duodenum antimezenterik duvarından girilerek pankreatik kanal kanüle edilmiştir. Uygulanan medikasyonun biliyer sisteme kaçmasının önlenmesi amacıyla pankreatikobiliyer kanal, damar mikroklemi ile kapatılmıştır.

Pankreatik fibroz indüksiyonu, bu kateterden yavaş infüzyon ile, kanal içi basınç artışına yol açmamak amacıyla yaklaşık 60 dak.' da verilen, 0.4 ml %10 etanol içinde çözülmüş %2' lik TNBS-FTS (pH:8) infüzyonu ile sağlanmıştır.

TNBS, hapten gibi davranıp lizin residüleri ile reaksiyona girerek dokuya karşı immünolojik yanıt oluşturmaktadır. Bunun yanında, süperoksit ve hidrojen peroksit radikalleri yoluyla direkt toksik etki de göstermektedir. TNBS ile oluşan akut inflamasyonun en önemli özelliği; kronik inflamasyon sürecine dönüşmesidir (128).

Cerrahi süresince yapılan palpasyonlar sonucunda gelişebilecek nekrozu önlemek amacı ile dikkat gösterilmiştir. Cerrahi sonrasında dehidratasyonun önlenmesi amacıyla her bir rata 3-5 ml kadar intraperitoneal SF verilmiştir. İndüksiyon sonrasında, önce pankreatik kanal kateteri daha sonra da damar mikroklemi çekilerek son kontroller yapılmış, batın 3.0 ipek sütür materyali ile kapatılmıştır. Postoperatif enfeksiyon önlenmesi amacıyla 20.000 U kristalize penisilin kas içerisine uygulanmış ve ratlar anesteziden doğal ayılma sürecine bırakılmışlardır. Ratlara postoperatif 24 saat boyunca besin ve içecek verilmemiş olup, daha sonra kafeslere yerleştirilerek serbest beslenme ve sıvı alımlarına izin verilmiştir.

Pankreatik kanal içerisine TNBS verilerek kronik pankreatit fibrozunun oluşması için gereken ortalama süre yaklaşık dört haftadır. Dört hafta bitimini takiben NAC tedavisi verilecek gruba 50 mg/kg/gün dozunda intraperitoneal olarak NAC uygulaması yapılmıştır. Diğer gruplara ise 10 ml/kg/gün steril SF verilmiştir. Tüm rat grupları sekizinci haftanın sonunda sakrifiye edilmiştir. Bu süre içerisinde tüm ratlarda haftalık kilo takibi yapılmıştır.

3.4 Sakrifikasyon

Tüm ratlar indüksiyon işleminden sekiz hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyon hazırlığında, ratlara gaz anestezisi için; %3' lk Seroflurane, %1.5' lik O₂ ve %0.6' lık N₂O, katı anestezi için ise; Xylazine HCl 10 mg/kg ve Ketamine HCl 90 mg/kg dozunda intramuskuler olarak uygulanmıştır. Anestezisi sağlanan ratlara daha sonra öldürücü dozlarda anestetik verilerek sakrifiye edilmiştir. Rat batını, tekrar anterior kesi ile açılarak her bir rat pankreas dokusundan; oksidatif stres parametre çalışmaları için kuru tüpe ve bir adet de histopatolojik inceleme için %10 formaldehit içeren tüpe örnekler alınmıştır. Örnekler tümü bir kerede çalışılmak üzere -80°C' de saklanmışlardır.

3.5 Laboratuvar İncelemeleri

Pankreas dokusunda oksidatif stres durumunu belirlemek amacıyla, indirekt oksidatif stres belirteçleri olarak kabul edilen; MDA düzeyleri ile, GSH-Px ve SOD enzim aktiviteleri ölçümü yapılmıştır.

Pankreas dokusu örnekleri %1.5'lik KCL ile homojenize edilmiş, bu homojenat santrifüje edilerek süpernatant kısım ölçümler amacıyla ayrılmıştır. Oksidatif stres parametre lmleri UV/Vis spektrometresi ile yapılmıştır. Doku MDA düzeyleri nmol/gr, GSH-Px ve SOD enzim aktiviteleri ise U/gr olarak ifade edilmiştir. MDA düzeyi Aydın ve arkadaşlarının (129), GSH-Px ve SOD enzim aktiviteleri ise Richard ve arkadaşlarının (130) tanımladığı yöntemler kullanılarak ölçülmüştür.

Formalin içerisinde saklanmış olan pankreas doku örneklerinden parafin bloklar hazırlanarak, mikrotom ile kesitler alınmıştır. Kesitler; Hemotoksilen-Eosin (H-E) ve Masson's trikrom (fibrozun gösterilmesi

amacıyla), immünohistokimyasal α -SMA boyaları (aktive stellat hücrelerin gösterilebilmesi amacıyla) ile boyanmıştır (127). Kesitler, bu konuda uzman ve deneyimli bir patolog ve klinisyen tarafından kör olarak değerlendirilmiştir. Her bir rat pankreas dokusundan alınan örnekler, farklı zamanlarda iki kez değerlendirmiştir. Gruplar arasında istatistiksel karşılaştırmanın yapılabilmesi amacıyla bir histopatolojik skorlama sistemi hazırlanmış, hazırlanan doku örnekleri bu sisteme göre puanlanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Pankreas doku örneklerinin histopatolojik skorlaması.

		Fokal/Hafif	Orta	Belirgin
FİBROZ	Perisellüler	1	2	3
	İnterlobüler	3	5	7
ATROFİ	Sublobüler	1	3	5
	Lobüler	3	5	7
KOLLAJEN		1	2	3

3.6 İstatistiksel değerlendirme

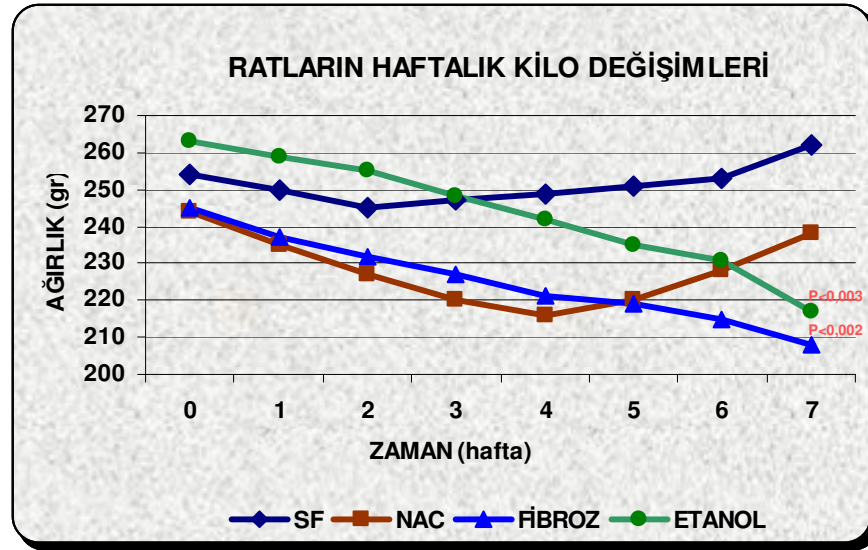
İstatistiksel hesaplamaların tamamı mikro işlemci yardımı ile ticari istatistik paket programı (SPSS PC, Ver. 11; SPSS Inc. USA) kullanılarak yapılmıştır. Oransal değerler yüzde (%), sayısal değerler ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası (SEM) olarak ifade edilmiştir. Bütün istatistiksel hesaplamalarda alfa serbestlik derecesi 0,05 olarak kabul edilmiştir. Hesaplanan p değerlerinin 0,05' ten küçük bulunduğu durumlar anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar arası farkların karşılaştırmalarında Mann-Whitney U, ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testleri kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Tüm ratlar sekiz hafta süre ile bir kafes içerisinde iki rat olacak şekilde sıvı ve besin alımı serbest olarak izlenmişlerdir. Tedavi grubuna hergün 50 mg/kg dozunda periton içerisine NAC uygulanmıştır. Diğer gruplara ise periton içerisine hergün 10 ml/kg dozunda steril SF enjekte edilmiştir. Çalışma süresince ilk dört haftada ratlarda kayıp olmazken 4-8 hafta arasında Fibroz ve Etanol gruplarından birer rat kaybedilmiştir.

4.1 Ratların kilo değişimleri

Ratların kilo takipleri haftalık olarak yapılmıştır. Kilo değişimleri tablo 4.1' de gösterilmiştir. Fibroz ve etanol gruplarında kilo kayıpları kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha fazladır. (Fibroz grubu $p < 0.002$, etanol grubu $p < 0.003$). SF ve NAC grubu ratlarda, ilk dört hafta içerisinde kilo kaybı gözlenirken, NAC grubunda, 4. haftadan günden itibaren kilo artışı başlamıştır. (NAC $p > 0.05$, SF $p > 0.05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Ratların haftalık kilo değişimleri. [Fibroz ve etanol gruplarında başlangıca göre kilo kayıpları istatistiksel olarak anlamlıdır. (Fibroz $p < 0,002$, etanol $p < 0,003$)].

4.2 Oksidatif stres belirteçleri

Oksidatif stres parametreleri olarak pankreas dokusunda MDA düzeyleri, SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri kullanılmıştır. Doku MDA düzeyi

nmol/gr ıslak doku, doku SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri ise U/gr ıslak doku olarak ifade edilmiştir (tablo 4.2.1).

Tablo 4.1 Ratların ağırlıklarındaki değişim (gr).

	0.	2.hf	4.hf	6.hf	8.hf	p
SF	254±5	245±6	247±7	253±3	272±8	>0,05
NAC	244±4	227±6	216±2	228±6	244±5	>0,05
Fibroz	245±7	232±4	221±4	215±3	203±7	<0,002
Etanol	263±5	255±4	242±6	231±2	210±5	<0,003

Tablo 4.2.1. Grupların MDA, SOD ve GSH-Px enzim aktivite düzeyleri.

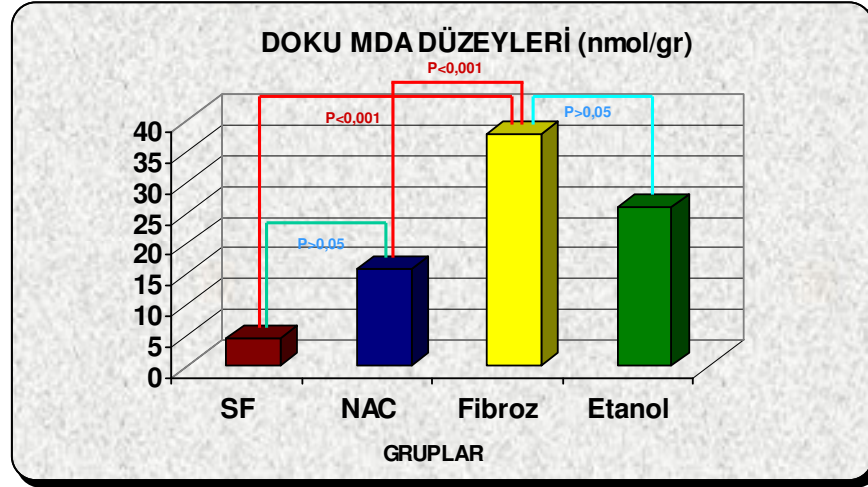
	MDA (nmol/gr)	SOD (U/gr)	GSH-Px (U/gr)
SF	4,3±0,2	593,0±11,8	159,9±2,4
NAC	15,73±0,3	381±5,5	185,3±1,8
Fibroz	37,6±0,8	272,5±7,8	57,1±2,3
Etanol	25,9±0,5	359,8±8,6	75,4±1,4

Tablo 4.2.2. Gruplar arasında oksidatif stres belirteçlerinin karşılaştırılması.

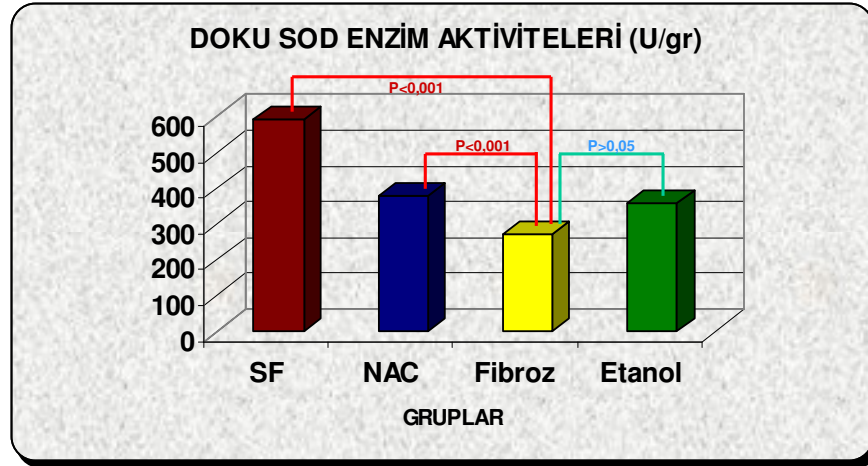
	Altgrup Analizi	Değerler	P
MDA (nmol/gr)	Fibroz / SF	37.6±0.8 / 4.3±0.2	*p<0,001
	Fibroz / NAC *	37.6±0.8 / 15,73±0,3*	
	NAC / SF	15,73±0,3/ 4.3±0.2	
GSH-Px (U/gr)	Fibroz / SF	57.1±2.3 / 159.9±2.4	*p<0,001
	Fibroz / NAC *	57.1±2.3 / 185,3±1,8*	
	NAC / SF	185,3±1,8 / 159.9±2.4	
SOD (U/gr)	Fibroz / SF	272.5±7.8 / 593.0±11.8	*p<0,001
	Fibroz / NAC *	272.5±7.8 / 381±5,5*	
	NAC / SF	381±5,5 / 593.0±11.8	

Elde edilmiş olan değerlerin alt gruplarının analizi yapıldığında doku MDA düzeyleri NAC grubunda, pankreatik fibroz (TNBS) grubuna göre

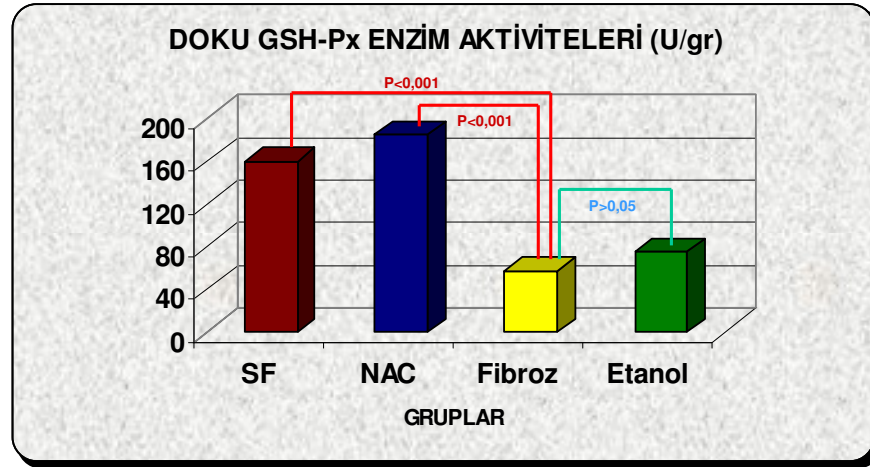
anamlı derece daha düşük olarak bulunmuştur ($p<0.001$). Pankreas dokusunda SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri ise; NAC grubunda, pankreatik fibroz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır ($p<0.001$, $p<0.001$) (Tablo- 4.2.2, Şekil 4.2.1, 4.2.2, 4.2.3).



Şekil 4.2.1. Gruplara göre doku MDA düzeyleri. [NAC grubunda MDA düzeylerinde azalma Fibroz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır. (Fibroz – NAC ve fibroz - SF $p<0,001$)].



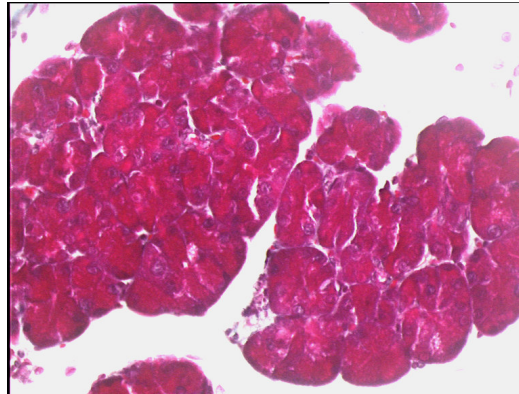
Şekil 4.2.2. Gruplara göre doku SOD enzim aktiviteleri. [NAC grubunda SOD aktivitesinde artış Fibroz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır. (Fibroz – NAC ve fibroz - SF $p<0,001$)].



Şekil 4.2.3. Gruplara göre doku GSH-Px enzim aktiviteleri. [NAC grubunda GSH-Px aktivitesinde artış Fibroz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır. (Fibroz – NAC ve fibroz - SF $p<0,001$)].

4.3 Histopatolojik bulgular

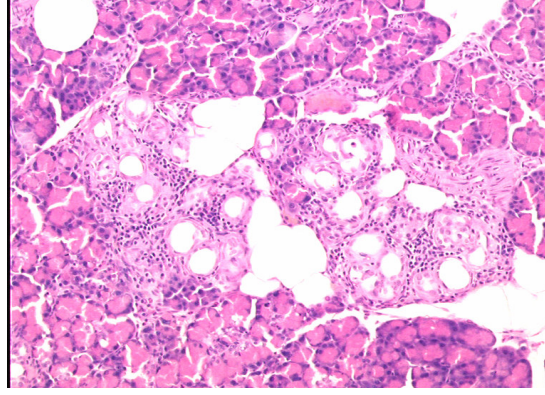
Pankreas dokularında ışık mikroskopisi ile; hematoksilin-eozin (HE), Masson's trikrom (MT) ve α -SMA boyama teknikleri kullanılarak inceleme ve değerlendirmeler yapılmıştır (Şekil 4.3.1).



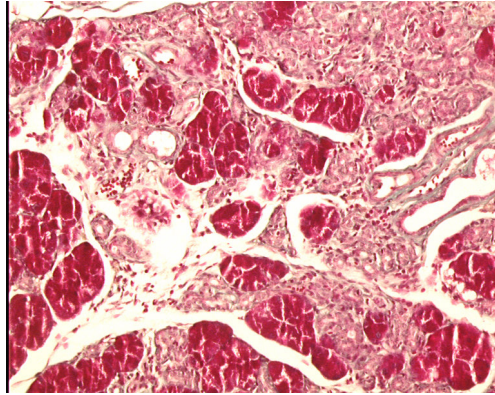
Şekil 4.3.1. Normal rat pankreas dokusu (Masson Trikrom x200).

Fibroz ve alkol grubuna randomize edilmiş olan ratlarda, histopatolojik incelemede belirgin; İntersitisyel ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, asiner yıkım, inter-/ intralobüler fibroz ve yağlı dejenerasyon gözlenmiştir (Resimler 4.3.2 ve 4.3.3).

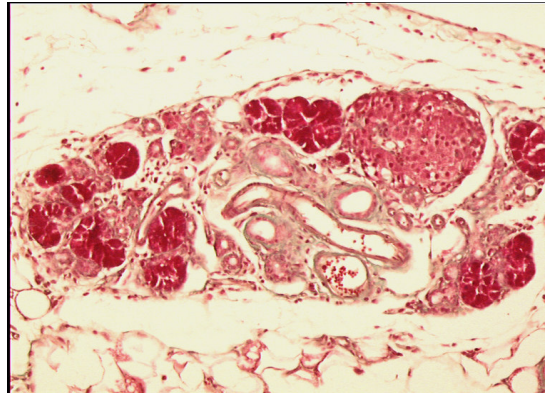
Tüm deney gruplarında temel histopatolojik bulgular; lobüler ve sublobüler yerleşimli olan, segmental tutulumlu glandüler atrofi ve mononükleer inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve bunlara eşlik eden, perisellüler ve intralobüler fibrozis (Resim 4.3.4 ve 4.3.5).



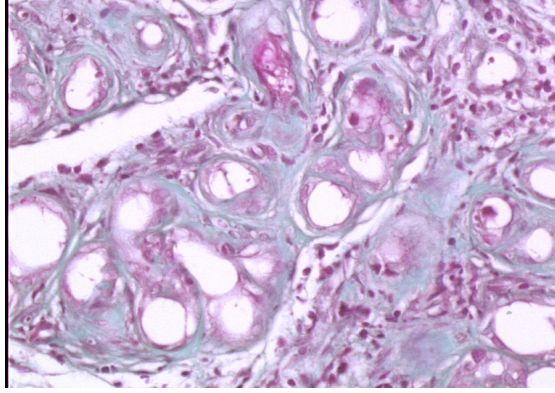
Şekil 4.3.2. Korunmuş asiner gruplar ve sublobüler atrofi (HEx100)



Şekil 4.3.3. Yaygın sublobüler atrofi (MT, x100).

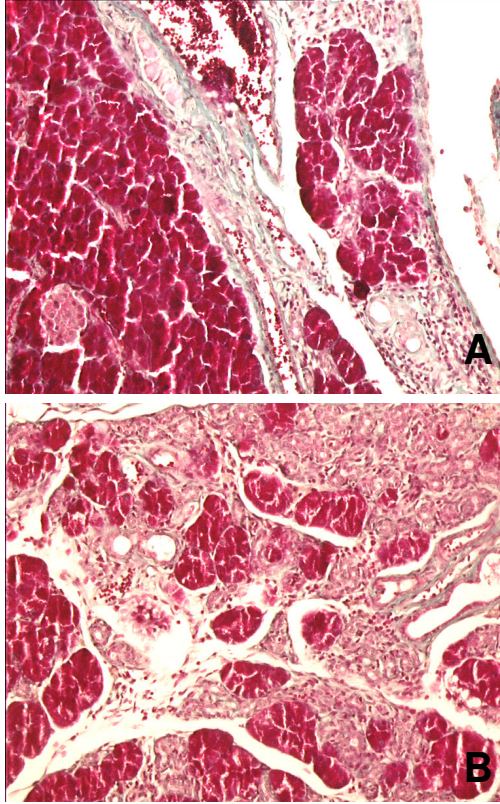


Şekil 4.3.4. Pankreatik lobülde korunmuş asiner kümeler (ok) ile arada atrofik alanlar (Masson-trikrom, x100)

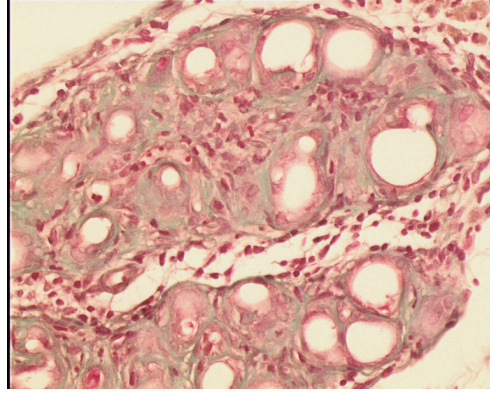


Şekil 4.3.5. Lobüler atrofi ve perisellüler fibroz (MT, x200).

TNBS verilerek indüksiyon uygulanmış grupta sekiz hafta sonunda ileri derecede fibroz geliştiği gözlenmiştir. Ancak indüksiyondan dört hafta sonra NAC uygulamasına başlanan grupta fibroz gelişimde gerileme olduğu dikkati çekmiştir. Masson's trikrom kullanılarak şiddetli sublobüler ve lobüler tutulum gösterilmiştir. (Şekil 4.3.6 A ve B, 4.3.7).

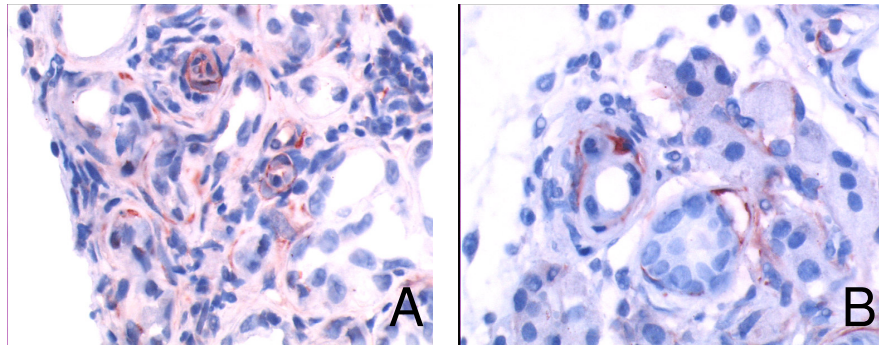


Şekil 4.3.6. A. İnterlobler fibroz ve fokal asiner atrofi (NAC grubu, MT, x100) **B.** Yaygın sublobüler fibroz (Fibroz grubu, MT, x100).



Şekil 4.3.7. Lobüler atrofi ve perisellüler fibroz (NAC grubu, MT, x200).

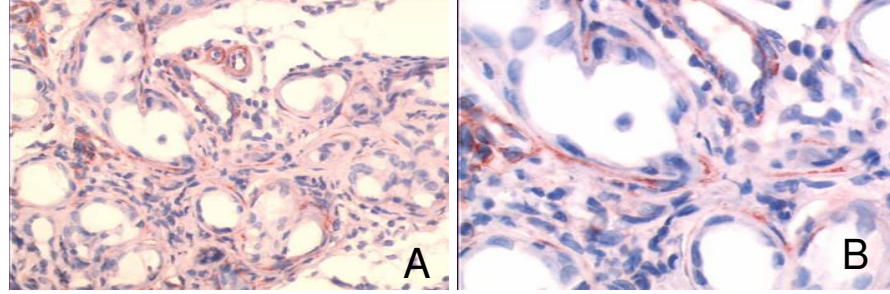
α -SMA boyaması ile periasiner alanda yerleşmiş ve hasar sonrası aktive olmuş α -SMA pozitif PSH' lerin varlığı gösterilmiştir. α -SMA ve Masson's trikrom boyalarının birlikte kullanılması ile fibroz alanlarında artmış sayıda PSH mevcudiyeti bu hücreler ile fibroz ilişkisine işaret etmektedir. (Şekil 4.3.8 ve 4.3.9).



Şekil 4.3.8. Periasiner yerleşimle pankreatik stellat hücreler (A, α -SMA x200 B, α -SMA x400)

Pankreas dokularının, histopatolojik değerlendirme çizelgesine (Tablo 3.) göre incelenmesi sonrasında elde edilen patoloji skorları tablo 4.3' de gösterilmiştir. Değerlendirmeye alınan tüm parametrelerde fibroz ve etanol gruplarında yükseklik dikkati çekmektedir. Fibroz grubu ile kıyaslandığında; perisellüler / interlobüler fibrozda ve kollajen birikiminde ki iyileşme NAC grubunda anlamlıydı (sırasıyla $p < 0.005$, $p < 0.005$, $p < 0.008$). Etanol grubu ile

kıyaslandığında ise perisellüler fibrozda iyileşme NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.001$).

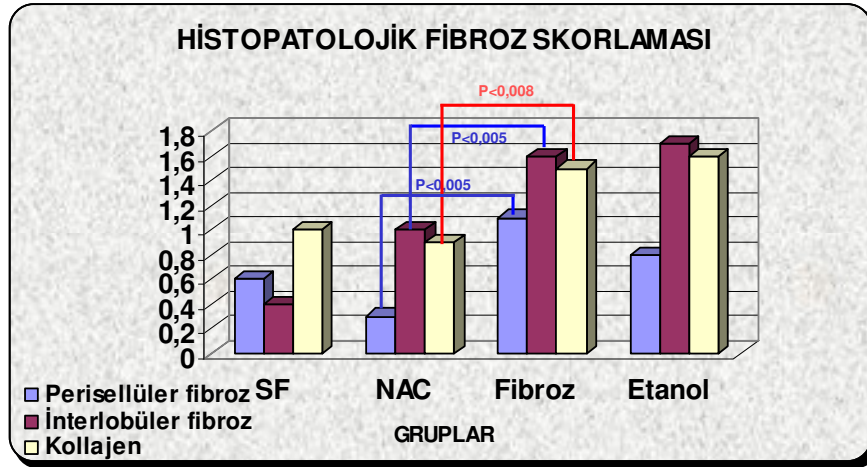


Şekil 4.3.9. Fibrotik alanlarda α -SMA pozitif (aktive) stellat hücrelerin varlığı (MT ve α -SMA, A x20, B x400).

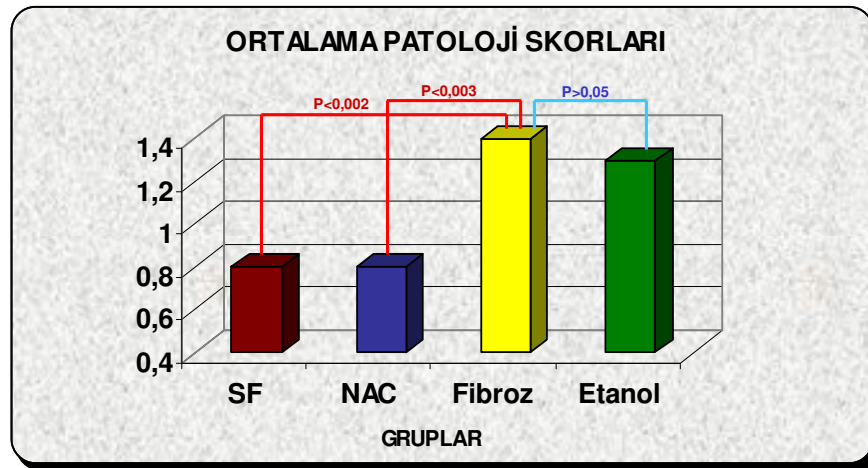
Toplam patoloji skorlarının alt gruplarının analizinde ise; NAC grubu histopatolojik değerlendirme skoru, fibroz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olarak tespit edilmiştir. ($p<0.003$). Ayrıca, tüm grupları içeren, oksidatif stres parametreleri ile patoloji skorlarının istatistiksel olarak karşılaştırmasında; doku oksidatif stresinde artış ile yüksek patoloji skoru arasında anlamlı düzeyde ilişkili bulunmuştur (Patoloji skoru / MDA : $p<0.03$, SOD : $p<0.04$, GSH-Px : $p<0.02$).

Tablo 4.3 Histopatolojik patoloji skorları.

	SF	NAC	FİBROZ	ETANOL
Perisellüler fibroz	0,6 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,2
İnterlobüler fibroz	0,4 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,5	1,7 $\pm$ 0,6
Kollajen	1,0 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,3
Sublobüler atrofi	0,5 $\pm$ 0,2	0,6 $\pm$ 0,4	0,8 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,2
Lobüler atrofi	1,5 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,2	2,1 $\pm$ 0,4	1,7 $\pm$ 0,7
Ortalama skor	0,8 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,4



Şekil 4.3.10. Histopatolojik fibroz skorları (Fibroz/NAC; perisellüler fibroz $p<0,005$, interlobüler fibroz $p<0,005$, kollajen $p<0,008$).



Şekil 4.3.11. Histopatolojik değerlendirme ortalama patoloji skorları (Fibroz/NAC $p<0,003$, Fibroz/SF $p<0,002$, Fibroz/Etanol $p>0,05$).

TARTIŞMA

Oksidatif stresin kronik pankreatit patogenezinde rol oynadığı fikri 1990' lı yıllarda Braganza ve ark. tarafından ortaya atılmıştır. 20 yılı aşkın süredir üzerinde çalışmalar ise bu teoriyi destekleyen sonuçlara ulaşmıştır (54,56,59,60,131).

Çalışmamızın sonucunda, pankreas dokusunda oksidatif stres ile elde edilen patoloji skorları arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Bu ilişki, kronik pankreatit süreci boyunca SOR' nin etkili olduğunu göstermektedir. Bu bulgularımız literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumludur (56,60,133). Çeşitli etiyolojik nedenlere bağlı olarak artan oksidatif stres pankreatiti başlatmakla kalmaz, hastalık sürecinde de etkisini devam ettirmektedir.

Dokuda SOR artışının organ hasarında ve fibrozda aktif olarak rol oynaması, yeni tedavi yaklaşımları aranmasına yol açmıştır. Heras ve ark tarafından yapılmış deneysel rat modeli kullanılan çalışmada; serulein ve siklosporin ile kronik pankreatit geliştirilerek, tedavi amacı ile metiyonin, beta-karoten, vitamin C, vitamin E ve organik selenyum kombinasyonu kullanılmıştır. Sonuçta antioksidan kompleksi kullanılarak kollajen birikiminde azalma olduğu gösterilmiştir (134). Mas ve ark., TNBS kullanarak oluşturdukları deneysel rat modelinde güçlü bir antioksidan olan taurin kullanmışlar ve oksidatif strese gerileme ve tedavisiz bırakılan gruba kıyasla fibroz ve atrofide istatistiksel olarak anlamlı düzelme bulmuşlardır (132).

SOR, nükleer transkripsiyon faktörü NF- κ B' yi aktive ederek, asiner ve stellat hücrelerde inflamatuvar sitokin (TNF- α gibi) gen ekspresyonunu regüle etmektedir. TNF- α , stellat hücre proliferasyonuna ve kollajen sentezine neden olmaktadır (59,136,137). TNF- α ' nın bloke edilebilmesi pankreatit sürecinde sağ kalımı artırırken, kronikleşmeyi ve sekel sıklığını azaltmaktadır. (138-140). Dokuda artan oksidatif stres pankreatit gelişiminin tüm aşamalarında yer aldığı ve hastalık seyri süresince yüksek seyrettiği için, eğer antioksidan tedavi ile oksidatif stres baskılanabilirse NF- κ B aktivasyonu ve TNF- α ekspresyonunda engelleneceği hipotezi ile yapılmış olan çalışmalarda da başarılı sonuçlar elde edilmiştir (141-143). Antioksidan

tedavi ile hem pankreatik stellat hücrelerde, hem de asiner hücreler ve nötrofillerde NF- κ B aktivasyonu önlenebilmektedir (144, 145).

Literatürde yapılmış olan çalışmaların büyük çoğunluğu akut pankreatit üzerinedir. Bu çalışmalarda NAC' in kombinasyon tedavisi içerisinde kullanılması tercih edilmiştir. NAC' in kronik pankreatit gelişimini tek başına engelleyici özelliğini test eden çalışma bulunmamaktadır. Yine, NAC' in antioksidan özellikleri karaciğer ve böbrek gibi diğer organlarda da çalışılmaktadır.

NAC indirgenmiş GSH kaynağı olan bir tiyol bileşiğidir. Sülfidril bileşiği sayesinde hücre içi sistini, sisteine indirger, GSH sentezini stimule edebilir, glutatyon-S- transferaz aktivitesini ve detoksifikasyonu arttırabilir ve direkt olarak SOR ile etkileşime girebilir. SOR savunması için SH gereklidir. Yani NAC hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksitin indirgenmesinde de rol almaktadır (13, 73-76, 86).

1998 yılında Gukovsky ve ark., seruleinle indüklenen rat akut pankreatitinde, NAC kullanımının NF- κ B aktivasyonunu önleyerek pankreatit parametrelerinde düzelme sağladığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada NAC, tripsin aktivasyonunu ve IL-6 mRNA ekspresyonunu da inhibe etmiştir (146). 2000 ' li yıllardan itibaren akut pankreatitte NAC kullanımını, oksidatif stres üzerine olumlu etkileri nedeni ile genel kabul görmeye başlamış ve yapılan çalışmalarda tek başına ve/veya kombine olarak yaygın kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmaların büyük kısmında, NAC' in akut pankreatitte koruyucu ve engelleyici etkilerini, NF- κ B aktivasyonunu önleyerek gerçekleştirdiği kanıtlanmıştır (16,147-153).

Sevillano ve ark. bir dizi deneysel akut pankreatit çalışması sonrasında; NAC uygulaması ile akut pankreatitin erken dönemlerinde asiner hücreler içerisinde gelişen, akut pankreatit ile ilişkili diğer patolojik mekanizmaları da engelleyebildiği; asiner hücre siklusunu koruyarak atrofiyi geriletmediği, asiner hücrelerde antioksidan savunmaları tekrar güçlendirerek pankreatitin yol açtığı hasarı azalttığı sonucuna ulaşmışlardır (15,154,155).

NAC' in akut pankreatitte faydaları üzerine yapılmış çalışmalar kesin kanıtlar ortaya koyduğu halde, literatürde in vivo kronik pankreatit çalışması bulunmamaktadır. İn vitro çalışmalarda ise temel hedef olarak PSH' ler ve NF- κ B kullanılmıştır. Asami ve ark. hücre kültür ortamında basınca maruz bıraktıkları PSH' ler üzerinde yaptıkları çalışma ile; SOR basınca bağlı PSH aktivasyonu ve ekstrasellüler matriks üretimininde de anahtar rol oynamaktadır ve NAC gibi antioksidanlar kronik pankreatitte, pankreatik fibroz gelişimine karşı etkili olabilmektedirler sonucuna ulaşmışlardır (156).

Çalışmamızda elde edilen verilerde, NAC kullanımı ile oksidatif stres parametreleri düzelme göstermekte, patoloji skorları da bu düzelmeye paralellik göstermektedir. Akut pankreatitte etkinliği kanıtlanmış olan NAC' in kronik pankreatitli ratlarda kullanımı ile hem hastalık süresince etkisi devam etmekte olan SOR' lerine karşı SH grubu sayesinde antioksidan savunma kuvvetlendirilmekte hem de NF- κ B aktivasyonu baskılanarak inflamasyon yanıtı önlenmektedir. Diğer taraftan bugün bilmekteyiz ki PSH' ler kronik pankreatitte fibroz gelişiminde rol oynayan temel hücrelerdir. PSH' ler NF- κ B aracılığı ile aktive olarak ekstrasellüler matriks sentezler ve TIMP/TGF β eksprese ederler. Bunlar, matriks metalloproteinazlarını inhibe ederek yeni oluşan matriksin yıkımını da engellerler (157, 158). NAC muhtemelen bu hücrelerin aktivasyonunda yer alan inflamatuvar yanıtı baskılayarak bu hücreleri apoptoza sürüklemekte, bu sayede fibroz ve atrofi gelişimini azaltmaktadır.

TNBS ile indüklenen kronik pankreatitte gerekli olan süre yaklaşık 4 haftadır. 4 hafta sonra uygulanmaya başlanan NAC ile kronik pankreatit histolojisinde düzelme sağlanabilmiştir. Bu sonuç kullandığımız antioksidan molekülün sadece akut pankreatit erken döneminde değil, yerleşmiş fibroz üzerinde de tedavi edici özelliği olabileceği lehine bir bulgudur. NAC' in profilaktik etkisi üzerine kesin kanıtlar mevcuttur ancak, kronik pankreatitte fibroz ve atrofide iyileştirici etkisi bulunduğu ilk defa gösterilmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Taşıdığı SH grubu ile güçlü bir antioksidan olan NAC, kronik pankreatitte oksidatif stres göstergelerini düzeltmektedir. Bu sayede, oksidatif stresin yol açtığı bilinen, NF- κ B ve PSH aktivasyonunu engellemektedir. Tüm bunların yanı sıra yerleşik fibroz ve atrofi üzerine de faydalı etkileri mevcuttur. Bu veriler ile ümit vaad edici bir antifibrotik ajan özelliği taşımaktadır.

NAC molekülünün, kronik pankreatit tedavi yaklaşımında yerini alması için daha geniş çaplı, karşılaştırmalı, in vivo ve in vitro çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Whitcomb DC., Mechanisms of disease: Advances in understanding the mechanisms leading to chronic pancreatitis, *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 1(1):46-52, Nov 2004.
2. Patel M., Fine DR., Fibrogenesis in the pancreas after acinar cell injury, *Scand J Surg.* 94(2):108-11, 2005.
3. Goh KL., Chronic pancreatitis: aetiology, epidemiology and clinical presentation, *Med J Malaysia.* 60 Suppl B:94-8, Jul 2005.
4. Dryden GW. Jr, Deaciuc I., Arteel G., et al., Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy, *Curr Gastroenterol Rep.* 7(4):308-16, Aug 2005.
5. Kakizaki S., Hamada T., Yoshinaga T., et al., Alcoholic chronic pancreatitis with simultaneous multiple severe complications-extrahepatic portal obliteration, obstructive jaundice and duodenal stricture, *Hepatogastroenterology.* 52(64):1274-7, Jul-Aug 2005.
6. Gullo L., Migliori M., Brunetti MA., Manca M., Alcoholic pancreatitis: new insights into an old disease, *Curr Gastroenterol Rep.* 7(2):96-100, May 2005.
7. Apte MV., Wilson JS., Mechanisms of pancreatic fibrosis, *Dig Dis.* 22(3):273-9, 2004.
8. Connelly E., Chronic pancreatitis debilitating for the patient, frustrating to manage, *JAAPA.* 17(12):14-6, Dec 2004.
9. Bruno MJ., Chronic pancreatitis, *Gastrointest Endosc Clin N Am.* 15(1):55-62, Jan 2005.
10. Schneider A., Whitcomb DC., Singer MV., Animal models in alcoholic pancreatitis-what can we learn? *Pancreatology.* 2(3):189-203, 2002.
11. Azima B., Kao RL., Youngberg G., et al., A new animal model of reversible acute pancreatitis, *J Surg Res.* 1;63(2):419-24, Jul 1996.
12. Uden S., Bilton D., Nathan L., et al., Antioxidant therapy for recurrent pancreatitis: placebo-controlled trial, *Aliment Pharmacol Ther.* 4(4):357-71, Aug 1990.

13. Aruoma OI., Halliwell B., Hoey BM., et al., The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid, *Free Radic Biol Med* 6:593-597, 1989.
14. De Vries N., De Flora S., N-Acetyl-L-Cysteine, *J Cell Biochem* 17F:S270-S277, 1993.
15. Sevillano S., De la Mano AM., De Dios I., et al., Major pathological mechanisms of acute pancreatitis are prevented by N-acetylcysteine, *Digestion*. 68(1):34-40. Epub 2003 Aug 29.
16. Yağcı G., Gül H., Simsek A., et al., Beneficial effects of N-acetylcysteine on sodium taurocholate-induced pancreatitis in rats, *J Gastroenterol*. 39(3):268-76, 2004.
17. Hardman J., Shields C., Schofield D., et al., Intravenous antioxidant modulation of end-organ damage in L-arginine-induced experimental acute pancreatitis, *Pancreatology*. 5(4 -5) : 380-6. Epub 2005 Jun 23.
18. Etemad B., Whitcomb DC. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments, *Gastroenterology* 120: 682–707, 2001.
19. Anonymous. Copenhagen pancreatitis study. An interim report from a prospective epidemiological multicentre study, *Scand J Gastroenterol* 16:305–312, 1981.
20. Riela A., Zinsmeister AR., Melton LJ., et al., Increasing incidence of pancreatic cancer among women in Olmsted County, Minnesota, 1940 through 1988, *Mayo Clinic Proceedings* 67:839–845, 1992.
21. Robles-Diaz G., Vargas F., Uscanga L., et al., Chronic pancreatitis in Mexico City, *Pancreas* 5:479– 483, 1990.
22. Tinto, A., Lloyd, D.A., Kang, J.Y., et al., Acute and chronic pancreatitis-disease on the rise: A study of hospital admissions in England in 1989/90-1999/2000, *Aliment. Pharmacol. Ther.* 16(12): 2097-2105, 2002.

23. Lin Y., Tamakoshi A., Matsuno S., et al., Nationwide epidemiological survey of chronic pancreatitis in Japan, *J Gastroenterol* 35:136–141, 2000.
24. Levy, P., Milan, C., Pignon, J.P., et al., Mortality factors associated with chronic pancreatitis. unidimensional and multidimensional analysis of a medical-surgical series of 240 patients, *Gastroenterology*. 96: 1165-1172, 1989.
25. Bornman, P.C., Beckingham, I.J., Chronic pancreatitis. *B.M.J.* 322: 660-663, 2001.
26. Glasbrenner, B., Kahl, S., Malfertheiner, P., Modern diagnostics of chronic pancreatitis. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 14: 935-941, 2002.
27. Sarles, H., An international survey on nutrition and pancreatitis. *Digestion*. 9: 389-395, 1973.
28. Wilson, J.S., Berstein, L., McDonald, C., Diet and drinking habits in relation to the development of alcoholic pancreatitis. *Gut*. 26: 882-889, 1985.
29. Amman, RW., Muellhaupt, B., The natural history of pain in alcoholic chronic pancreatitis, *Gastroenterology*. 116(5):1132-40, May 1999.
30. Layer P., Yamamoto H., Kalthoff L., et al., The different courses of early- and late-onset idiopathic and alcoholic chronic pancreatitis, *Gastroenterology*. 107(5):1481-7, Nov 1994.
31. Mergener K., Baillie J., Chronic pancreatitis, *Lancet* 8;350(9088):1379-85, Nov 1997.
32. Toskes PP., Forsmark CE., DeMeo MT., A multi-center controlled trial of octreotide for the pain of chronic pancreatitis, *Pancreas* 8:774, 1993.
33. Lecesne R., Taourel P., Bret PM., et al., Acute pancreatitis: interobserver agreement and correlation of CT and MR cholangiopancreatography with outcome. *Radiology* 211: 727–35, 1999.
34. Wiersema MJ., Hawes RH., Lehman GA., et al., Prospective evaluation of endoscopic ultrasonography and endoscopic retrograde cholangiopancreatography in patients with chronic abdominal pain of suspected pancreatic origin, *Endoscopy*. 25: 555–64, 1993.

35. Chung, O., Chronic pancreatitis. Textbook of Gastroenterology, (Ed) Yamada, T. Baltimore, Lippincott Williams and Wilkins Co. 1999, The Third Edition. Volume 2, Chapter 94.
36. Slaff J., Wolfe MM., Toskes PP., Elevated fasting cholecystokinin levels in pancreatic exocrine impairment: evidence to support feedback regulation. *J Lab Clin Med*,105:282–5, 1985.
37. Toskes PP., Forsmark CE., DeMeo MT., A multi-center controlled trial of octreotide for the pain of chronic pancreatitis , *Pancreas* 1993;8:774.
38. McCleane GJ., The cholecystokinin antagonist proglumide has an analgesic effect in chronic pancreatitis, *Pancreas* 21:324–5, 2000.
39. Shiratori K., Takeuchi T., Satake K., Clinical evaluation of oral administration of a cholecystokinin-a receptor antagonist (loxiglumide) to patients with acute, painful attacks of chronic pancreatitis: a multicenter dose response study in Japan, *Pancreas* 25:E1–5, 2002.
40. Rosch T., Daniel S., Scholz M., Endoscopic treatment of chronic pancreatitis: a multicenter study of 1000 patients with long-term follow-up, *Endoscopy* 34:765–71, 2002.
41. Wahoff DC., Papalois BE., Najarian JS., et al. Autologous islet transplantation to prevent diabetes after pancreatic resection, *Ann Surg* 222:562–79, 1995.
42. Bordalo O., Goncalves D., Noronha M., et al, Newer concept for the pathogenesis of chronic alcoholic pancreatitis, *Am. J Gastroenterol.* 68:278-85, 1977.
43. Clemente F., Esitval A., Durand S., et al, Biochemical events in rat pancreatic cells in acute and chronic alcohol intoxication. In: Gyr KE, Singer MV, Sarles II, eds, *Pancreatitis: Concepts and classification*. Amsterdam: Excerpta Medica 11-6, 1984.
44. Wilson JS., Colley PW., Sosula L., et al., Alcohol causes a fatty pancreas. A rat model of ethanol- induced pancreatic steatosis. *Alcohol Clin Exp Res* 6:117-21,1982.

45. Lange LG., Sobel BE., Mitochondrial dysfunction induces by fatty acid ethyl esters, myocardial metabolites of ethanol, *J Clin Invest.* 72:724-31, 1983.
46. Amman RW., Ilcitz Ph U., Kloppel G., Course of alcoholic chronic pancreatitis. A prospective clinico-morphological long term study *Gastroenterology.* 111:224-31, 1996.
47. Comfort, M.W., Gaubill, E.E., Baggenstos, A.M., Chronic relapsing pancreatitis: a study of 29 cases without associated disease of the biliary or gastro-intestinal tract. *Gastroenterology.* 6: 239-245, 1946.
48. Braganza, J.M., the pathogenesis of chronic pancreatitis, *Q. J. Med.* 89: 243-250, 1996.
49. Cavallini G., Is chronic pancreatitis a primary disease of the pancreatic ducta? A new pathogenetic hypothesis. *Ital J Gastroenterol* 25:400-7, 1993.
50. Bachem MG., Schneider A., Gros Il., et al., Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans, *Gastroenterology* 115:421-32, 1998.
51. Yokota T., Denham W., Murayama K., et al., Pancreatic stellate cell activation and MMP production in experimental pancreatic fibrosis, *J Sur Res* 104:106-11, 2002.
52. Casini A., Galli A., Pignatola P., et al., Collagen type I synthesized by pancreatic periacinar stellate cell (PSC) co-localizes with lipid peroxidation derived aldehydes in chronic alcoholic pancreatitis, *J Pathol*;118:356-67, 2001.
53. Van Laethem JL., Deviere J., Resibois A., et al., Localization of transforming growth factor beta 1 and proteoglycan production in experimental glomerulonephritis, *J Clin Invest*;86:453-62, 1990.
54. Braganza, J.M., Scott, P., Bilton, D., Evidence for early oxidative stress in acute pancreatitis, *Int. J. Pancreatol.* 17: 69-81, 1995.
55. Norton, I.D., Apte, M.V., Lux, O., Chronic ethanol administration causes oxidative stress in the rat pancreas, *J. Lab. Clin. Med.* 131: 442-481, 1998.

56. Mathew, P., Wyllie, R., VanLente, F.: Antioxidants In Hereditary Pancreatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 91: 1558-1562, 1996.
57. Braganza, J.M., Schofield, D., Snehath, C., Micronutrient antioxidant status in tropical compared with temperate-zone chronic pancreatitis, *Scand. J. Gastroenterol.* 28: 10998-10104, 1993.
58. Farkas, G., Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *Ovosi. Hetilab.* 136: 1819-1822, 1995.
59. Morris-Stiff, G.J., Bowrey, D.J., Oleesky, D., The antioxidant profiles of patients with recurrent acute and chronic pancreatitis. *Am. J Gastroenterol.* 94(8): 2136-40, 1999.
60. Van Gossum, A., Closset, P., Noel, E., Deficiency in antioxidant factors in patients with alcohol-related chronic pancreatitis. *Dig. Dis. Sci.* 41: 1225-1231, 1996.
61. Jaakkola, M., Pancreatitis in Finland between 1970 and 1989. *Gut.* 62: 1255-1260, 1993.
62. Coşkun, T., Korkusuz, P., Kaya, Y., et al., Free oxygen radical-induced acute pancreatitis. A light and electron microscopic study. *Hepatogastroenterology.* 50; 43-48, 2003.
63. Fu, K., Sarras, M.P., De Lisle, R.C., et al., Expression of oxidative stress-responsive genes and cytokine genes during cerulein-induced acute pancreatitis. *Am J Physiol.* 273; 696-705, 1997.
64. Kusske, A.M., Rongione, A.J., Reber, H.A., Cytokines and acute pancreatitis. *Gastroenterology.* 110: 639-42, 1996.
65. Gros, V., Leser, H.G., Heinisch, A.: Inflammatory mediators and cytokines—new aspects of the pathophysiology and assessment of severity of acute pancreatitis, *Hepatogastroenterology.* 40: 522-530, 1993.
66. Zimnoch, L., Szynaka, B., Puchalski, Z., Mast cells and chronic pancreatitis with differently intensified fibrosis, *Hepatogastroenterology.* 49(46): 1135-1138, 2002.

67. Yaşar, M., Mas, M.R., Cömert, B., et al., Has the oxidative stress a role in late phase of experimental acute necrotizing pancreatitis? *Hepatogastroenterol.* 49; 1692-1695, 2002.
68. Renheckel, T., Prause, J., Nedeleev, B., Oxidative stress affects pancreatic proteins during the early pathogenesis of rat cerulein pancreatitis. *Digestion.* 60; 56-62, 1999.
69. Urunuela, A., Sevillano, S., De la Mano, et al., Time-course of oxygen free radical production in acinar cells during acute pancreatitis induced by pancreatic duct obstruction. *Biochim Biophys Acta.* 1588; 159-164, 2002.
70. Barnes, P.J., Karin, M., Nuclear Factor- κ B: A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N. Engl. J. Med.* 336: 1066-1071, 1997.
71. Altavilla, D., Famulari, C., Passaniti, M., et al., Attenuated Cerulein-induced pancreatitis in NF- κ B deficient mice. *Lab Invest.* 83; 1723-1732, 2003.
72. De las Heras, Castano G., Garcia de la Paz A., et al., Use of antioxidants to treat pain in chronic pancreatitis. *Rev Esp Enferm Dig* 92:375–85, 2000.
73. De Caro L., Ghizzi A., Costa R., et al., Pharmacokinetics and bioavailability of oral acetylcysteine in healthy volunteers. *Arzneim Forsch* 1989;39:382-385
74. Borgstrom L, Kagedal B, Paulsen O. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man. *Eur J Clin Pharmacol* 31:217-222, 1986.
75. Bonanomi L., Gazzaniga A., Toxicological, pharmacokinetic and metabolic studies on acetylcysteine. *Eur J Respir Dis* 61:45-51, 1980.
76. Olsson B., Johansson M., Gabrielsson J., et al., Pharmacokinetics and bioavailability of reduced and oxidized N-acetylcysteine. *Eur J Clin Pharmacol* 34:77-82, 1988.
77. Issels RD., Nagele A., Eckert KG., et al., Promotion of cystine uptake and its utilization for glutathione biosynthesis induced by cysteamine and N-acetylcysteine, *Biochem Pharmacol* 37:881-888, 1988.

78. Kawase M., Ogino S., et al. Effects of age on levels of cysteine, glutathione and related enzyme activities in livers of mice and rats and an attempt to replenish hepatic glutathione level of mouse with cysteine derivatives, *Mech Ageing Dev* 90:195-207, 1996.
79. Hoffer E., Baum Y., Tabak A., et al., N-acetylcysteine increases the glutathione content and protects rat alveolar type II cells against paraquat-induced cytotoxicity, *Toxicol Lett* 84:7-12, 1996.
80. Corcoran GB., Wong BK., Role of glutathione in prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity by N-acetyl-L-cysteine in vivo: Studies with N-acetyl-D-cysteine in mice, *J Pharm Exp Ther* 238:54-61, 1986.
81. Pratt S., Ioannides C., Mechanism of the protective action of N-acetylcysteine and methionine against paracetamol toxicity in the hamster, *Arch Toxicol* 57:173-177, 1985.
82. Bernard GR., Wheeler AP., Arons MM., et al., A trial of antioxidants N-acetylcysteine and procysteine in ARDS. The Antioxidant in ARDS Study Group, *Chest* 112:164-172, 1997.
83. Pastor A., Collado PS., Almar M., et al., Antioxidant enzyme status in biliary obstructed rats: effects of N-acetylcysteine, *J Hepatol* 27:363-370, 1997.
84. De Flora S., Bennicelli C., Camoirano A., et al., In vivo effects of N-acetylcysteine on glutathione metabolism and on the biotransformation of carcinogenic and/or mutagenic compounds, *Carcinogenesis* 6:1735-1745, 1985.
85. Devlin J., Ellis AE., McPeake J., et al., N-acetylcysteine improves indocyanine green extraction and oxygen transport during hepatic dysfunction, *Crit Care Med* 25:236-242, 1997.
86. Wagner PD., Mathieu-Costello O., Bebout DE., et al., Protection against pulmonary O₂ toxicity by N-acetylcysteine, *Eur Respir J* 2:116-126, 1989.

87. Cotgreave IA., Eklund A., Larsson K., et al., No penetration of orally administered N-acetylcysteine into bronchoalveolar lavage fluid. *Eur J Respir Dis* 70:73-77, 1987.
88. Rodenstein D., De Coster A., Gazzaniga A., Pharmacokinetics of oral acetylcysteine: absorption, binding, and metabolism in patients with respiratory disorders, *Clin Pharmacokin* 3:247-254, 1978.
89. Wegener T., Sandhagen B., Saldeen T., Effect of N-acetylcysteine on pulmonary damage due to microembolism in the rat, *Eur J Respir Dis* 70:205-212, 1987.
90. Millar AB., Pavia D., Agnew JE., et al., Effect of oral N-acetylcysteine on mucus clearance, *Br J Dis Chest* 79:262-266, 1985.
91. British Thoracic Society Research Committee. Oral N-acetylcysteine and exacerbation rates in patients with chronic bronchitis and severe airways obstruction. *Thorax*. 40:832-835, 1985.
92. Parr GD., Huitson A., Oral Fabrol (oral N-acetyl-cysteine) in chronic bronchitis, *Br J Dis Chest* 81:341-348, 1987.
93. Rasmussen JB., Glennow C., Reduction in days of illness after long-term treatment with N-acetylcysteine controlled-release tablets in patients with chronic bronchitis, *Eur Respir J* 1:351-355, 1988.
94. Behr J., Maier K., Degenkolb B., et al., Antioxidative and clinical effects of high-dose N-acetylcysteine in fibrosing alveolitis. Adjunctive therapy to maintenance immunosuppression, *Am J Respir Crit Care Med* 156:1897-1901, 1997.
95. Travaline JM., Sudarshan S., Roy BG., et al., Effect of N-acetylcysteine on human diaphragm strength and fatigability. *Am J Respir Crit Care Med* 156:1567-1571, 1997.
96. Omara FO., Blakley BR., Bernier J., et al., Immunomodulatory and protective effects of N-acetylcysteine in mitogen-activated murine splenocytes in vitro, *Toxicology*. 116:219-226, 1997.
97. Breithaupt TB., Vazquez A., Baez I., et al., The suppression of T cell function and NF(kappa)B expression by serine protease inhibitors is blocked by N-acetylcysteine, *Cell Immunol* 173:124-130, 1996.

98. De Flora S., Grassi C., Carati L., Attenuation of influenza-like symptomatology and improvement of cell-mediated immunity with long-term N-acetylcysteine treatment, *Eur Respir J.* 10:1535-1541, 1997.
99. Yunis AA., Lim LO., Arimura GK., DNA damage induced by chloramphenicol and nitroso-chloramphenicol: protection by N-acetylcysteine, *Respiration.* 50:S50-55, 1986.
100. Wilpart M., Speder A., Roberfroid M., Anti-initiation activity of N-acetylcysteine in experimental colonic carcinogenesis, *Cancer Lett.* 31:319-324, 1986.
101. Gavish D., Breslow JL., Lipoprotein(a) reduction by N-acetylcysteine, *Lancet.* 337:203-204, 1991.
102. Hultberg B., Andersson A., Isaksson A., The effects of homocysteine and copper ions on the concentration and redox status of thiols in cell line cultures, *Clin Chim Acta.* 262:39-51, 1997.
103. Bostom AG., Shemin D., Yoburn D., et al., Lack of effect of oral N-acetylcysteine on the acute dialysis-related lowering of total plasma homocysteine in hemodialysis patients, *Atherosclerosis.* 120:241-244, 1996.
104. Ceconi C., Curello S., Cargnoni A., et al., The role of glutathione status in the protection against ischaemic and reperfusion damage: effects of N-acetyl cysteine, *J Mol Cell Cardiol.* 20:5-13, 1988.
105. Arstall MA., Yang J., Stafford I., et al., N-acetylcysteine in combination with nitroglycerin and streptokinase for the treatment of evolving acute myocardial infarction. Safety and biochemical effects, *Circulation.* 92:2855-2862, 1995.
106. Sochman J., Vrbska J., Musilova B., et al., Infarct size limitation: acute N-acetylcysteine defense (ISLAND trial): preliminary analysis and report after the first 30 patients, *Clin Cardiol.* 19:94-100, 1996.
107. Winniford MD., Kennedy PL., Wells PJ., et al., Potentiation of nitroglycerin-induced coronary dilatation by N-acetylcysteine, *Circulation.* 73:138-142, 1986.

- 108.** Chirkov YY., Horowitz JD., N-Acetylcysteine potentiates nitroglycerin-induced reversal of platelet aggregation, *J Cardiovasc Pharmacol.* 28:375-380, 1996.
- 109.** Horowitz JD., Henry CA., Syrjanen ML., et al., Nitroglycerine/N-acetylcysteine in the management of unstable angina pectoris, *Eur Heart J.* 9:95-100, 1988.
- 110.** Ardissino D., Merlini PA., Savonitto S., et al., Effect of transdermal nitroglycerin or N-acetylcysteine, or both, in the long-term treatment of unstable angina pectoris, *J Am Coll Cardiol.* 29:941-947, 1997.
- 111.** Rogers DF., Godfrey RW., Majumdar S., et al., Oral N-acetylcysteine speeds reversal of cigarette smoke-induced mucous cell hyperplasia in the rat, *Exp Lung Res.* 14:19-35, 1988.
- 112.** Eklund A., Eriksson O., Hakansson L., et al., Oral N-acetylcysteine reduces selected humoral markers of inflammatory cell activity in BAL fluid from healthy smokers: correlation to effects on cellular variables, *Eur Respir J* 1:832-838, 1988.
- 113.** Linden M., Wieslander E., Eklund A., et al., Effects of oral N-acetylcysteine on cell content and macrophage function in bronchoalveolar lavage from healthy smokers, *Eur Respir J.* 1:645-650, 1988.
- 114.** Smilkstein MJ., Knapp GL., Kulig KW., et al., Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. Analysis of the national multicenter study (1976 to 1985), *N Engl J Med.* 319:1557-1562, 1988.
- 115.** Al-Mustafa ZH., Al-Ali AK., Qaw FS., et al., Cimetidine enhances the hepatoprotective action of N-acetylcysteine in mice treated with toxic doses of paracetamol, *Toxicology.* 121:223-228, 1997.
- 116.** Buchter A., Peter H., Bolt HM., et al., N-Acetylcysteine as an antidote in accidental acrylonitrile poisoning, *Int Arch Occup Environ Health.* 53:311-319, 1984.

- 117.** Liu AJ., Richardson MA., Effects of N-acetylcysteine on experimentally induced esophageal eye injury, *AnnOtolRhinolLaryngol.* 94:477-482,1985.
- 118.** Girardi G., Elias MM., Effectiveness of N-acetylcysteine in protecting against mercuric chloride-induced nephrotoxicity, *Toxicology.* 67:155-164, 1991.
- 119.** Lund ME., Banner W. Jr, Clarkson TW., et al., Treatment of acute methylmercury ingestion by hemodialysis with N-acetylcysteine (Mucomyst) infusion and 2,3-dimercaptopropane sulfonate, *J Toxicol Clin Toxicol.* 22:31-49, 1984.
- 120.** Shum S., Skarbovig J., Habersang RW., Acute lethal arsenite poisoning in mice: effect of treatment with N-acetylcysteine, D-penicillamine and dimercaprol on survival time, *Vet Hum Toxic.* 23:39-42, 1981.
- 121.** Henderson P., Hale TW., Shum S., et al., N-Acetylcysteine therapy of acute heavy metal poisoning in mice, *Vet Hum Toxicol.* 27:522-525, 1985.
- 122.** Martin DS., Willis SE., Cline DM., N-acetylcysteine in the treatment of human arsenic poisoning, *J Am Board Fam Pract.* 3:293-296, 1990.
- 123.** Endo A., Watanabe T., Analysis of protective activity of N-acetylcysteine against teratogenicity of heavy metals, *Reprod Tox.* 2:141-144, 1988.
- 124.** Threlkeld DS., ed. *Drug Facts and Comparisons.* St Louis, Missouri: Facts and Comparisons; 1997:1090-1094.
- 125.** Tenenbein M., Hypersensitivity-like reactions to N-acetylcysteine, *Vet Hum Toxicol.* 26:3-5, 1984.
- 126.** Jones AL., Jarvie DR., Simpson D., et al., Pharmacokinetics of N-acetylcysteine are altered in patients with chronic liver disease, *Aliment Pharmacol Ther.* 11:787-791, 1997.
- 127.** Haber, P.S., Keogh, G.W., Apte, M.V., Pancreatic stellate cells are activated in human and experimental pancreatitis, *Gastroenterology.* 114: A466, 1998.
- 128.** Puig-Divi, V., Molero, X., Slas, A., Induction of chronic pancreatic disease by trinitrobenzene sulfonic acid infusion into rat pancreatic ducts. *Pancreas.* 13(4): 417-424, 1996.

129. Aydın, A., Orhan, H., Sayal, A., et al., Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control, *Clin. Biochem.* 34: 65-70, 2001.
130. Richard, M.J., Arnaud, J., Jurkowitz, C., et al., Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure, *Nephron.* 57: 10-15, 1991.
131. Matsumura, N., Ochi, K., Ichimura, M., et al., Study on free radicals and pancreatic fibrosis – pancreatic fibrosis induced by repeated injections of superoxyde dismutase inhibitor. *Pancreas.* 22(1): 53-57, 2001.
132. Mas R., Işık A.T., Yamanel, L. et al., Antioxidant treatment with taurine ameliorates chronic pancreatitis in an experimental rat model. *Pancreas.* 33,(1): July 2006.
133. Rose, P., Fraine, E., Hunt, L.P., Dietary antioxidants and chronic pancreatitis, *Hum. Nutr. Clin. Nutr.* 40C: 151-164, 1986.
134. Castano, H., Unzueta, G., Agustín Domínguez D., et al., Pancreatic fibrosis in rats and its response to antioxidant treatment. *Journal of the Pancreas.*; 6(4):316-324, 2005.
135. Mews, P., Phillips, P., Fahmy, R., et al., Pancreatic stellate cells respond to inflammatory cytokines: potential role in chronic pancreatitis. *Gut.* 50: 535-541, 2002.
136. Morris-Stiff, G.J., Bowrey, D.J., Oleesky, D., The antioxidant profiles of patients with recurrent acute and chronic pancreatitis, *Am. J Gastroenterol.* 94(8): 2136-40, 1999.
137. Sapronov, N.S., Khnychenko, L.K., Polevshikov, A.V., Effects of taurine derivatives on primary immune response, *Bull Exp Biol Med.* 131; 142-144, 2001.
138. Denham, W., Fink, G., Yang, J., et al., Small molecule inhibition of tnfr gene processing during acute pancreatitis prevents cytokine cascade progression and attenuates pancreatitis severity. *Am Surg.* 63;1045-1049, 1997.

139. Ethridge, R.T., Hashimoto, K., Chung, D.H., et al., Selective inhibition of ng-kb attenuates the severity of cerulein induced acute Pancreatitis. *J Am Coll Surg.* 195; 497-505, 2002.
140. Hughes, C.B., Grewal, H.P., Gaber, L.W., et al., Anti-TNF α therapy improves survival and ameliorates the pathophysiological sequele in acute pancreatitis in the rat, *Am J Surg.* 171; 274-280, 1996.
141. Ahn, B.O., Kim, H.G., Lee, H.S., et al., Effects of taurin on cerulein-induced acute pancreatitis in the rat, *Pharmacology.* 61 (1): 1-7, 2001.
142. Gomez, J.A., Molero, X., Vaquero, E., et al., Vitamin E attenuates biochemical and morphological features associated with development of chronic pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 287; 162-169, 2004.
143. Seo, J.Y., Kim, H., Seo, J.T., et al., Oxidative stress induced cytokine production in isolated rat pancreatic aciner cells: effects of small-molecule antioxidants, *Pharmacology.* 64(2): 63-70, 2002.
144. Kim, H., Seo, J.Y., Roh, K.H., et al., Suppression of NF- κ B activation and cytokine production by N-Acetylcystein in pancreatic aciner cells, *Free Radic. Biol. Med.* 29(7): 674-683, 2000.
145. Okazaki, I., Watanabe, T., Hozawa, S., et al., Molecular mechanism of the reversibility of matrix metalloproteinase's. *Hepatology. Suppl* 15: D26-32, 2000.
146. Gukovsky I., Gukovskaya AS., Blinman TA., et al., Early NF-kappaB activation is associated with hormone-induced pancreatitis. *Am J Physiol.* 275(6 Pt 1):G1402-14, Dec 1998.
147. Demols A., Van Laethem JL., Quertinmont E., et al., N-acetylcysteine decreases severity of acute pancreatitis in mice. *Pancreas.* 20(2):161-9, Mar 2000.
148. Kim H, Seo JY, Kim KH. NF-kappaB and cytokines in pancreatic acinar cells. *J Korean Med Sci.* 2000 Aug;15 Suppl:S53-4.
149. Bhatia M., Brady M., Kang YK., et al., MCP-1 but not CINC synthesis is increased in rat pancreatic acini in response to cerulein

hyperstimulation, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 282(1):G77-85, Jan 2002.

150. Haraldsen P., Sun ZW., Börjesson A., et al., Multimodal management of value in fulminant acute pancreatitis? *Pancreatology.* 3(1):14-25, 2003.
151. Shi C., Zhao X., Wang X., et al., Role of nuclear factor-kappaB, reactive oxygen species and cellular signaling in the early phase of acute pancreatitis, *Scand J Gastroenterol.* 40(1):103-8, Jan 2005.
152. Eşrefoğlu M., Gül M., Ateş B., et al., Ultrastructural clues for the protective effect of ascorbic acid and N-acetylcysteine against oxidative damage on caerulein-induced pancreatitis, *Pancreatology.* 6(5):477-85. Epub 2006 Jul 19.
153. Kalyoncu NI., Alhan E., Ercin C., et al., Effects of dual inhibitor of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase on acute necrotizing pancreatitis in rats. *Hepatogastroenterology.* 53(70):597-602, Jul-Aug 2006.
154. Sevillano S., de Dios I., de la Mano AM., et al., N-acetylcysteine induces beneficial changes in the acinar cell cycle progression in the course of acute pancreatitis, *Cell Prolif.* 36(5):279-89, Oct 2003.
155. Sevillano S., de la Mano AM., Manso MA., et al., N-acetylcysteine prevents intra-acinar oxygen free radical production in pancreatic duct obstruction-induced acute pancreatitis, *Biochim Biophys Acta.* 20;1639(3):177-84, Nov 2003.
156. Asaumi H., Watanabe S., Taguchi M., et al., Externally-applied pressure activates pancreatic stellate cells through the generation of intracellular reactive oxygen species, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007 Aug 30; [Epub ahead of print]
157. Menke, A., Adler, G.: TGF Beta-induced fibrogenesis of the pancreas, *nt. J. Gastrointest. Cancer.* 31(1-3): 41-46, 2002.
158. Shek, W.T., Benyon, R.C., Walker, F.M., Expression of transforming growth factor- β 1 by pancreatic stellate cells and its implications for matrix secretion and turnover in chronic pancreatitis. *Am. J. Pathol.* 160(5): 1787-1798, 2002.