

**T. C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**WHEY PROTEİNİ İZOLATININ DENEYSEL KRONİK
PANKREATİT MODELİNDE KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Abdullah Mübin ÖZERCAN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet YALNIZ**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet YALNIZ

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Dört yıl süresince uzmanlık öğrenimime büyük katkıları olan başta tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet YALNIZ olmak üzere saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Emir DÖNDER, Prof. Dr. İ. Halil BAHÇECİOĞLU, Prof. Dr. Ahmet IŞIK, Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN, Prof. Dr. Yusuf ÖZKAN, Prof. Dr. Bilge AYGEN, Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER, Prof. Dr. S. Serdar KOCA, Doç. Dr. Burak UZ, Doç. Dr. Cem AYGÜN, Doç. Dr. Ulvi DEMİREL, Yrd. Doç. Dr. Kader UĞUR, Yrd. Doç. Dr. Leyla KILIÇ, Yrd. Doç. Dr. Asude AKSOY, Yrd. Doç. Dr. Mustafa CANHOROZ'a, teşekkür ederim.

Tezimin tüm aşamalarında değerli bilgilerini aktaran, her konuda destek olarak yol gösteren ve bundan sonraki akademik yaşantımın temelini kurmamda büyük emeği olan tez danışmanım, Gastroenteroloji Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet YALNIZ' a, Veterinerlik Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları öğretim üyesi Prof. Dr. Kazım ŞAHİN' e, tezimin deneysel aşamalarında emeği geçen Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU'ya, tezimin başta istatistiksel analiz olmak üzere her aşamasında yardımlarından dolayı Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Cemal ORHAN' a, histopatolojik inceleme safhasındaki yardımlarından dolayı Patoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim Hanifi Özercan'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım dostluklarını esirgemeyen tüm asistan ve uzman olmuş arkadaşlarıma, yan dal eğitimi alan ağabeylerime, iç hastalıkları servislerinde çalışan tüm hemşire, personellere teşekkür ederim.

Tüm hayat boyu olduğu gibi asistanlığım süresince de bana sevgi ve desteklerini bir an bile eksik etmeyen ve bana sabırlarını sunan sevgili anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Her türlü desteğini esirgemeyen, varlığıyla güven veren eşim Hilal ÖZERCAN' a teşekkür ederim.

ÖZET

Kronik pankreatit, sık görülmeyen ve pankreasta ilerleyici hasara neden olan bir hastalıktır. Toksik, obstrüktif, metabolik, genetik birçok etiyolojik nedeni olabilir. Hastalığın patogenezinde oksidatif stres ve inflamatuvar mekanizmalar önemli rol almaktadır. Mekanizması tam olarak anlaşılamamış bu hastalığın günümüzde küratif bir tedavisi mevcut değildir. Çalışmamızda, anti oksidan ve anti inflamatuvar etkileri olduğu bilinen whey proteininin kronik pankreatitten koruyucu etkisinin incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla 49 adet erkek, sprague-dawley cinsi rat 7 gruba ayrıldı:

1. Grup: Oral yoldan whey proteini izolatu gün aşırı verildi. 14. Gün sakrifasyon uygulandı.

2. Grup: DBTC ile pankreatit modeli oluşturuldu ve 14. Gün sakrifasyon uygulandı.

3. Grup: DBTC ile pankreatit modeli oluşturuldu ve ratlara oral yoldan gün aşırı whey proteini izolatu verildi. 14. Gün sakrifasyon uygulandı.

4. Grup: Kontrol grubu olarak belirlendi

5. Grup: Oral yoldan whey proteini izolatu gün aşırı verildi. 28. Gün sakrifasyon uygulandı.

6. Grup: DBTC ile pankreatit modeli oluşturuldu ve 28. Gün sakrifasyon uygulandı.

7. Grup: DBTC ile pankreatit modeli oluşturuldu ve ratlara oral yoldan gün aşırı whey proteini izolatu verildi. 14. Gün sakrifasyon uygulandı.

Çalışma sonunda biyokimyasal değerlendirme ve MDA ölçümü için kan örnekleri, histopatolojik inceleme ve NFκB, İL-6, TGF-β, TNF-α için pankreas doku örnekleri alındı.

Whey proteini tedavi grubu, 28.gün pankreatit grubu ile karşılaştırıldığında, AST, ALP, Amilaz, Lipaz gibi biyokimyasal parametrelerde; oksidatif stres belirteci olan MDA düzeylerinde; hastalık patogenezinde önemli olan NFκB ve TGF-β düzeylerinde iyileşme saptandı. Bu iyileşme istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$).

Sonuç olarak çalışmamız, whey proteininin kronik pankreatitten koruyucu etkisinin olabileceğini ortaya koymaktadır. MDA, NFκB ve TGF-β düzeylerinde iyileşme oluşması whey proteininin bu etkisini anti oksidan ve antiinflamatuvar özellikleriyle gerçekleştirdiğini düşündürebilmektedir.

Anahtar kelimeler: kronik pankreatit, whey proteini izolatu, oksidatif, anti-inflamatuvar

ABSTRACT

ASSESSMENT OF WHEY PROTEIN ISOLATE'S PREVENTIVE EFFECTS ON EXPERIMENTAL MODEL OF CHRONIC PANCREATITIS

Chronic pancreatitis is an uncommon disease and it causes progressive damage in the pancreas. There are many causes of the disease as toxic, obstructive, metabolic, genetic. Oxidative stress and inflammatory mechanisms are important at pathogenesis. Exact mechanism of chronic pancreatitis is unknown and today, there is no curative treatment method. The aim of our study was assessment of protective effect of whey protein on chronic pancreatitis which has known anti-oxidative and anti-inflammatory effects. For this reason, 49 male, sprague dawley rats divided into 7 groups:

1. Group: Whey protein isolate was given orally on alternate days. Sacrificed at day 14.
2. Group: Pancreatitis model formed by DBTC and sacrificed at day 14.
3. Group: Pancreatitis model formed by DBTC and whey protein isolate was given orally on alternate days. Sacrificed at day 14.
4. Group: Rats were accounted of control. Sacrificed at day 28.
5. Group: Whey protein isolate was given orally on alternate days. Sacrificed at day 28.
6. Group: Pancreatitis model formed by DBTC and sacrificed at day 28.
7. Group: Pancreatitis model formed by DBTC and whey protein isolate was given orally on alternate days. Sacrificed at day 28.

At the end of the study, blood samples for biochemical tests and MDA and pancreas tissue samples for histopathological tests, NF κ B, IL-6, TGF- β , TNF- α PCR tests, were taken.

Biochemical parameters as AST, ALT, amylase, lipase; oxidative stress marker MDA; NF κ B and TGF- β which are important for chronic pancreatitis pathogenesis were improved in whey protein treatment group when compared with day 28 pancreatitis group and these improvements were statistically significant ($p < 0.05$).

In conclusion, our data revealed that whey protein could probably have protective effect on chronic pancreatitis. It can be thought that whey protein shows the protective effect by anti-oxidative and anti-inflammatory features because of improvements in MDA, NF κ B ve TGF- β .

Key words: chronic pancreatitis, whey protein isolate, oxidative, anti-inflammatory.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Kronik Pankreatit	2
1.1.1.1. Epidemiyoloji	2
1.1.1.2. Patofizyoloji Ve Patoloji	3
1.1.1.2.1. TNF- α	6
1.1.1.2.2. İL-6	7
1.1.1.2.3. TGF- β	8
1.1.1.2.4. NF κ B	8
1.1.1.3. Etiyoloji	9
1.1.1.3.1. Alkolik	11
1.1.1.3.2. Diğer toksik nedenler	11
1.1.1.3.3. Dibutiltin diklorit	11
1.1.1.3.4. İdiyopatik	12
1.1.1.3.5. Tropikal pankreatit	12
1.1.1.3.6. Genetik	12
1.1.1.3.7. Otoimmün	13
1.1.1.4. Patogenez	13
1.1.1.5. Klinik Özellikler	14
1.1.1.5.1. Ağrı	15

1.1.1.5.2. Malabsorbsiyon	16
1.1.1.6. Tanı	17
1.1.1.6.1. Laboratuvar yöntemleri	17
1.1.1.6.2. Görüntüleme yöntemleri	17
1.1.1.6.3. Histopatoloji	18
1.1.1.6.3.1. Alkolik kronik pankreatit	18
1.1.1.6.3.2. Herediter pankreatit	19
1.1.1.6.3.3. Otoimmün pankreatit	19
1.1.1.6.3.4. Ki67	20
1.1.1.7. Komplikasyonlar	20
1.1.1.7.1. Psödokist	20
1.1.1.7.2. Psödoanevrizma	21
1.1.1.7.3. Pankreatik assit	21
1.1.1.7.4. Splenik ven trombozu	21
1.1.1.7.5. Pankreatik diyabet	22
1.1.1.7.6. Pankreas Kanseri	23
1.1.1.8.1. Ağrı tedavisi	24
1.1.1.8.2. Egzokrin yetmezliğin tedavisi	26
1.1.1.8.3. Endokrin yetmezliğin tedavisi	26
1.1.1.8.4. Antioksidan tedavi	27
1.1.2. Whey Proteini	28
1.1.2.1. Protein İçeriği	29
1.1.2.1.1. β -Laktoglobulin	30
1.1.2.1.2. Laktoferrin	30
1.1.2.1.3. İmmünglobulinler	30
1.1.2.1.4. Laktoperoksidaz	30
1.1.2.2. Whey Proteini Etki Mekanizması	30
1.1.2.2.1. Antioksidan etki	31
1.1.2.2.2. Anti-inflamatuvar etki	31
1.1.2.2.3. Lipid ve Glukoz Metabolizması Üzerine Etkileri	31

1.1.2.2.4. Kas metabolizması üzerine etkileri	32
1.1.2.2.5. Kanser	32
1.1.2.2.6. Hepatit ve karaciğer toksisitesi	33
1.1.2.2.7. Kardiyovasküler hastalıklar	33
1.1.2.2.8. Osteoporoz	34
1.1.2.2.9. Stres uyumu	34
1.1.2.2.10. Gastrointestinal destek	34
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER	35
2.1. Deney hayvanları	35
2.3. Pankreatit indüksiyonu	36
2.4. Whey proteini	36
2.5. Sakrifasyon	37
2.6. Laboratuvar incelemeleri	37
2.6.1. Biyokimyasal analiz	37
2.6.2. MDA	37
2.6.3. RT-PCR	37
2.6.4. Histopatolojik incelemeler	38
2.6.4.1. Hematoksilen eosin	38
2.6.4.2. Ki-67	38
2.7. İstatistiksel yöntemler	38
3. BULGULAR	39
3.1. Ağırlık değişimi	39
3.2. Biyokimyasal parametreler	41
3.3. MDA, NFκB, İL-6, TGF-β VE TNF-α incelemeleri	49
3.4. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal bulgular	55
4. TARTIŞMA	63
5. KAYNAKLAR	68
6. ÖZGEÇMİŞ	85

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Kronik pankreatitin etyolojik sınıflaması (TIGAR-O)	10
Tablo 2.	Wheyin içerdği proteinlerin immün fonksiyon mekanizmaları	29
Tablo 3.	Deneysel çalışma planı	36
Tablo 4.	DBTC ile pankreatit oluşturulan ratlarda whey proteinin hayvan ağırlıkları üzerine etkisi	40
Tablo 5.	DBTC ile pankreatit oluşturulan ratlarda whey proteininin biyokimyasal parametreler üzerine etkisi	42
Tablo 6.	DBTC ile pankreatit oluşturulan ratlarda whey proteininin Malondialdehit (MDA), Nükleer Faktör kappa B (NFκB), İnterlökin 6 (IL-6), Transforme edici Büyüme Faktörü Beta (TGFβ) ve Tümör Nekrozis Faktor alfa (TNFα) üzerine etkisi.	50
Tablo 7.	DBTC ile pankreatit oluşturulan ratlarda whey proteininin pankreas dokusu histopatolojik bulguları üzerine etkisi.	56

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Deneysel pankreatitte asiner hücrelerdeki değişiklikler	3
Şekil 2.	Kronik pankreatit klinik evrelemesi	15
Şekil 3.	Çalışmaya alınan ratların çalışma bitimindeki ağırlıklarının karşılaştırılması.	41
Şekil 4.	Çalışmaya alınan grupların kan glukoz düzeylerinin karşılaştırılması	43
Şekil 5.	Çalışmaya alınan grupların AST düzeylerine göre karşılaştırılması	44
Şekil 6.	Çalışmaya alınan grupların ALT değerleri açısından karşılaştırılması	45
Şekil 7.	Çalışmaya alınan grupların ALP değerleri açısından karşılaştırılması	46
Şekil 8.	Çalışmaya alınan grupların Amilaz değerleri açısından karşılaştırılması	47
Şekil 9.	Çalışmaya alınan grupların Lipaz değerleri açısından karşılaştırılması	48
Şekil 10.	Çalışmaya alınan grupların MDA değerleri açısından karşılaştırılması	51
Şekil 11.	Çalışmaya alınan grupların NFκB değerleri açısından karşılaştırılması	52
Şekil 12.	Çalışmaya alınan grupların İL-6 değerleri açısından karşılaştırılması	53
Şekil 13.	Çalışmaya alınan grupların TGF-β değerleri açısından karşılaştırılması	54
Şekil 14.	Çalışmaya alınan grupların TNF-α değerleri açısından karşılaştırılması	55
Şekil 15.	Kontrol grubu pankreas dokusunun histolojik görünümü (hematoksilen eosin x200)	58
Şekil 16.	Pankreatit ve Tedavi (whey+pankreatit) gruplarının histopatolojik görünümü (hematoksilen eosin x200):	59
Şekil 17.	Kİ-67 ile immünohistokimyasal inceleme	60

KISALTMALAR LİSTESİ

ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CFTR	: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CYP	: Sitokrom P
DBTC	: Dibutiltin diklorit
ECM	: Ekstraselüler matriks
ERKP	: Endoskopik retrograd kolanjiyopankreatografi
HLA	: Human leukocyte antigen
IKK	: IκB kinaz
IκB	: Inhibitor of kappa B
İL	: İnterlokin
MAPK	: Mitojen aktive eden kinaz
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein -1
MDA	: Malondialdehid
MMPs	: Matriks metalloproteinazlar
MRKP	: Manyetik rezonans kolanjiyopankreatografi
NFκ-B	: Nükleer faktör κ-B
PDGF	: Platelet ilişkili büyüme faktörü
PRSS1	: Katyonik tripsinojen geni
RANKL	: NFκB reseptör aktivatör ligandı
SPINK1	: Serin proteaz inhibitör Kazal tip 1
STAT	: Signal transducers and activators of transcription
TGF B	: Transforme edici büyüme faktörü bea
TIMPs	: Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri
TLR	: Toll benzeri reseptör
TNF	: Tümör nekrozis faktör
USG	: Ultrasonografi
USP	: United States Pharmacopeia

1. GİRİŞ

Kronik pankreatit, pankreasta ilerleyici ve geri dönüşü olmayan morfolojik değişikliklere neden olan inflamatuvar bir hastalıktır (1). Prevalansı 100.000 kişide 27.4; insidansı 8.2 olan hastalığın otopsi serilerinde %0.04 ile %5 oranında saptandığı bildirilmiştir (2-4). Ayrıca 2 yılı aşan kronik pankreatit olgularında pankreas kanseri riski artmış olup özellikle tanıdan 20 yıl sonra görülmektedir (5).

Kronik pankreatit tipik olarak ağrı ve pankreas fonksiyonlarında bozukluğa yol açar. Ağrı, akut pankreatit atağına benzerdir ve sürekli olup günlük yaşamı etkiler (6). Hastalığın geç evrelerinde pankreasın hem egzokrin hem de endokrin fonksiyonlarında kayıp görülür (7).

Hastalığın etiyolojisi, genetik varyasyonlar gibi endojen ve alkol, sigara, toksik ajanlara maruziyet gibi egzogen çok çeşitli faktörlere bağlı olabilir. Kronik pankreatitin patofizyolojisi belli olmayıp duktal tıkanma, nekroz-fibroz atakları, toksik metabolitler ve oksidatif stres gibi teoriler öne sürülmüştür (6).

Kronik pankreatit tanısındaki gelişmelere rağmen mevcut tedaviler tatmin edici değildir. Bunun nedeni, mevcut tedavilerin hastalığın gidişatını değil semptomlarını düzeltmeye yönelik olmasıdır.

“Peynir Altı Suyu” da denilen Whey proteini, peynir yapımı sırasında kazeinin çökelmesinden sonra geriye kalan çözünebilir proteinlerden oluşur. Bitkisel protein kaynaklarına göre daha yüksek konsantrasyonda esansiyel amino asit içermektedir (8). Ayrıca büyüme ve tamir mekanizmalarında önemli işlevleri bulunan dallı zincirli aminoasitler de (lösin, izolösin, valin) yüksek miktarlarda bulunur (9).

Whey proteininin içerdiği laktoferrinin pro Th1 sitokinlerini inhibe ettiği ve düzenleyici sitokin olan interlokin 10 üretimini arttırdığı tespit edilmiştir (10, 11). Ayrıca whey proteininin nötrofillerden interlokin 1 reseptör antagonisti üretimini arttırdığı gözlenmiştir (12).

Whey proteini, potent bir intraselüler antioksidan olan glutatyon sentezi için gerekli olan sisteinden zengin proteinleri içermesi nedeniyle antioksidan aktiviteye

sahiptir. Bu özelliğinden dolayı özellikle anti-aging ajanı olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır (13).

İnek sütündeki ve muhtemelen whey proteinindeki glutatyon proksidaz aktivitesi, anne sütüne benzer niteliktedir. Detoksifiye edici olarak kullanılan, selenyum ve sisteinden meydana gelen glutatyon proksidaz, lipid peroksidleri zararsız hidroksitlere çeviren endojen antioksidan bir enzimdir (14). Bu özelliklerine ek olarak whey proteinindeki alfa-laktalbumin komponenti ağır metalleri bağlar (15) ve demir bağlayıcı özelliğinden dolayı oksidatif stresi azaltır (16).

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Kronik Pankreatit

1.1.1.1. Epidemiyoloji

Olmsted şehrinde (Minnesota) yapılan çalışmalarda, kronik pankreatit insidansı (42/100.000) ve prevalansının (42/100.000) düşük olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte 1977- 2006 yılları arasındaki insidansın benzer oranlarda seyrettiği belirtilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarda Kronik pankreatit tanısı konulan hastaların ortalama yaşı 58 olup bu hastaların %56' sının erkek olduğu gözlenmiştir (17).

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 ve bu çalışmada prevalans, erkeklerde 45,4/100,000, kadınlarda ise 12,4/100,000 olarak tespit edilmiştir (18).

Kopenhag (19), ABD (20) ve Mexico City (21) serilerinin hepsinde de yaklaşık 4/100.000 şeklinde benzer bir insidans ve yılda yaklaşık 13/100.000 prevalans bildirmiştir.

Fransa'da kronik pankreatit prevalansı 26/100.000' dir. (22). Bu oran, Asya kıtasında yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (23). Ancak Güney Hindistan' da saptanan 114-200/100.000 oranından düşüktür (24).

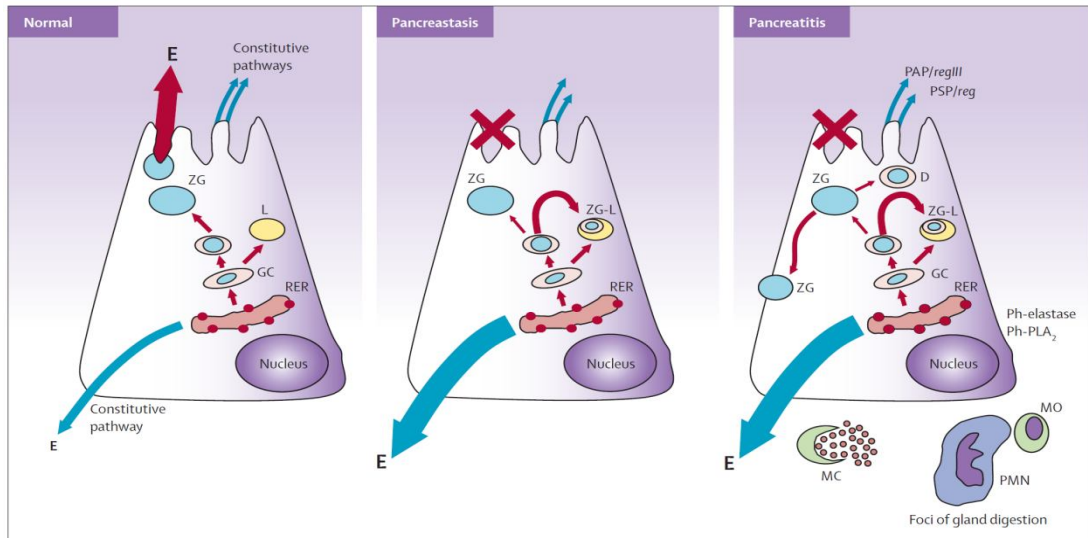
İngiltere' de 1989/90 ve 1999/2000 yılları arasındaki hastane başvurularını inceleyen bir çalışmada, akut pankreatit nedeniyle başvuru oranlarında %43 ve kronik pankreatit nedeniyle başvuru oranlarında ise %100' lük bir artış olduğu tespit edilmiştir (25).

Kronik pankreatitin 20 yıllık mortalite oranı yaklaşık %50' dir. Mortalite, atak komplikasyonu, eşlik eden hastalıklar veya alkolizm nedeniyle olabilir (1). Kronik pankreatitli hastalarda pankreatik kanser gelişme riski de artmış olup ölümlerin %3' ünden sorumludur (26).

Otopsi serilerinde KP görülme oranının %0.04 ile %5 arasında olduğu saptanmış olup bu oranın alkoliklerde çok daha yüksek olduğu belirtilmiştir (4).

1.1.1.2. Patofizyoloji Ve Patoloji

1950' li yıllardan beri yapılan deneysel çalışmalar, pankreatit atağının pankreas kanalında staz (27) ve pankreatik asiner hücrelerin apikal egzozitozunun engellenmesi ile başladığını göstermiştir (28). Asiner hücreler bazolateral membrandan sentezlenen enzimleri hızlı bir şekilde interstisyuma, ve bu yolla lenfatik kanallara salgılayabildiği gibi direkt olarak kan akımına da salgılayabilirler. Bununla birlikte bazı zimojen granüller depoladıkları enzimleri bazolateral membrandan da salgılayabilirler. Bazolateral membrandan salgılanma, inflamasyon durumlarında gerçekleşir. Prospektif klinik çalışmalarda, pankreas kanalında staz ve sonrasında pankreatit gelişimi desteklenmiştir (29) (Şekil 1).



Şekil 1. Deneysel pankreatitte asiner hücrelerdeki değişiklikler (6).

E: pankreatik enzimler, RER: düz endoplazmik retikulum, GC: golgi kompleksi, ZG: zimojen granül, L: lizozom, ZG-L: lizozomal enzimlerle aktive olan zimojen granüller, D: sentripedal granüllerin dissolüsyonu, PAP/regIII: Pankreatit ilişkili protein, PSP/reg: Pankreatik Taş Proteinini/adacık rejenerasyon proteinini, MC: mast hücresi, PMN: polimormonükleer hücre, MO: monosit, Ph-PLA₂: fagositlerden salınan fosfolipaz A₂.

Kronik pankreatit başlangıcında bilinmeyen nedenlerle pankreatik sıvı içeriğinde protein depozitleri oluşturacak biçimde (özellikle kalsiyum karbonat taşlarının oluşumu için öncül) değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Erken dönemde, pankreatik enzim ve kalsiyum sekresyonunda artış olur. Ayrıca tripsinojenin prematür aktive olmasını engelleyen serin proteaz inhibitör Kazal tip 1 (SPINK1), bikarbonat ve sitrat sekresyonu azalır (30). Bununla birlikte pankreatik sıvıda serbest radikal oksidasyon ürünlerinin arttığı saptanmıştır. Bu maddelerin devam eden elektrofilik streten sorumlu oldukları düşünülmektedir. Oluşan stresi dengelemek için doğal antioksidanlar olan laktoferrin ve musin konsantrasyonlarında artış saptanmış olup (31, 32) pankreatit ilişkili protein (PAP/regIII) ve önceden litostatin diye adlandırılan pankreatik taş proteininin (PSP/reg) konsantrasyonlarında değişikliklerin meydana geldiği görülmüştür (33). Bu proteinlerin elektrofilik stres durumlarında aktif hale geldikleri ve tripsin ile kısmi olarak parçalanmaları sonrasında pankreasta fibröz kafesler oluşturdıkları saptanmıştır (30).

Zimojen granül membranlarından salınan glikoprotein-2 (GP-2)' de de artış olur. Duktal sıvıda lizozomal enzim seviyeleri artar ve tripsin izleri görülmeye başlar (34). Bunlarla birlikte metionin metabolik yolağı hasara uğramıştır (35). Histolojik olarak hastalığın triadı: asiner hücre kaybı, mononükleer hücre infiltrasyonu ve fibrozistir. Erken dönemde lezyonlar, yama şeklinde dağılmış olduğundan tanı amacıyla bu dönemde yapılan iğne biyopsisi güvenilir olmayabilir. Pankreasta meydana gelen her inflamatuvar atak yağ nekrozu oluşumuna neden olur ve bu odaklardan psödokist ve fibrozis gelişir (36). Sinir sonlanmalarında noziseptif kimyasal ekspresyonu arttıkça sinirler perinöryum bölgelerinden inflamasyon bölgelerine doğru uzanım gösterirler (37). Bu durum, pankreatitte ağrının daha da şiddetlenmesine neden olur.

İmmünohistokimyasal çalışmalar, kronik pankreatit gelişimi hakkında önemli bilgiler verir. Hastalık ortaya çıktığında hiperplastik olan asiner hücreler, proliferen olan langerhans adacıkları ve hepatositlerde, sitokrom P450 monooksijenazlarının ekspresyonunda belirgin artış olduğu görülmüştür (38-40). CYP enzimlerinin görevi, çevresel lipofilik kimyasalları metabolize etmektir. Metabolizasyonun ilk

aşamasında; enzim substratını hidroksile etmek için reaktif oksijen bileşiklerini kullanırlar ve ikinci aşamada genellikle glutatyon transferaz ile katalize edilen reaksiyon ile glutatyon ile konjugasyon gerçekleşir. Gerçekleşen enzim indüksiyonu nedeniyle endoplazmik retikulumda genişleme meydana gelir. Bu nedenle hastalık başlangıcında hücrenin normal ürünlerinde de artış görülür. Ayrıca reaktif oksijen bileşiklerinin kullanıldığı ilk aşamada ksenobiyotik metabolit oluşması durumunda endoplazmik retikulumdaki genişleme zararlı hale gelir. Reaktif oksijen bileşikleri ve reaktif ksenobiyotik metabolitlerine karşı antioksidan enzimler, glutatyon transferazlar, glutatyon, askorbik asit gibi defans mekanizmalarının yeterliliğine göre hücre hasarı gelişir. İmmünohistokimyasal incelemeler, kronik pankreatitte asiner hücrelerde artan oksidan miktarına yetecek defans mekanizmalarının olmadığını (38-42) ve ayrıca artmış lipofuskin, sitoplazmik mikrovezikulasyon ile elektrofilik stres varlığını gösterir (43).

Kronik pankreatitte interstisyel stellat hücreleri de aktive olur ve bu aktivasyonun göstergesi fibrozistir. Stellat hücrelerin ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezi ve regülasyonunu sağlayıp hastalığın ilerlemesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Pankreatik hasarın erken evrelerinde sessiz halde duran pankreatik stellat hücreler, düz kas aktini (α -SMA) eksprese eden miyofibroblast benzeri hücrelere dönüşürler. İnflamatuvar hücreler ve plateletlerden salınan birçok inflamatuvar faktör, pankreatik stellat hücrelerde büyümeye, ekstraselüler matriks ve stellat hücrelerden sentelenen sitokinlerde artışa neden olur. PDGF, TGF- β , β -fibroblast büyüme faktörü (FGF), TNF- α , İL-1B ve bağ doku büyüme faktörü gibi faktörler ekstraselüler matriks oluşumunu aktive ederler. Fibroziste rol alan TGF- β , özellikle inflamatuvar hücreler, duktal hücreler ve pankreatik fibrozis çevresinde bulunan stellat hücrelerden sentezlenirler. Ayrıca TGF- β 1R ve TGF- β 2R reseptörleri de stellat hücrelerde eksprese edilmektedir. Bu durum, TGF- β ' ya bağlı ekstraselüler matriks üretiminin parakrin ve otokrin yollarla gerçekleştiğini düşündürmektedir. İL-1B ve TNF- α stimülasyonuna cevap olarak aktive olan stellat hücrelerde MCP-1, intraselüler adezyon molekülü-1, İL-8 ve RANTES gibi birçok inflamatuvar sitokinin üretimi gerçekleşir (44).

Histokimyasal incelemelerden elde edilen veriler fibrozis gelişiminde iki faktörün etkisi olduğunu göstermiştir: genişlemiş asinilerde reaktif oksijen bileşiklerinin oluşmasına neden olan lipid peroksidasyon ürünlerinin artışı (45) ve başta TGF β 1(46) olmak üzere mast hücre degranülasyon ürünleri (47.). Bu iki faktör de reaktif oksijen bileşikleri ve bunların mast hücrelerinin doğal aktivatörleri olan oksidasyon ürünleri ile ilişkilidir (29). Stellat hücrelerin aktivasyonunun, infiltre olan lökositler ve hasarlı asiner hücrelerden salınan sitokinlerle arttığı saptanmıştır (48). Pankreatik fibrozis, ekstraselüler matriksin üretimi ve yıkımı arasındaki denge ile düzenlenir. Stellat hücreler tarafından sentezlenen ECM, matriks metalloproteinazlar (MMP) tarafından yıkılır. MMP' ler matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMPs) tarafından bloke edilir. Kronik pankreatitte stellat hücrelerde ve pankreatik fibrozis alanlarında TGF-B tarafından MMP-3 ve MMP-9' un baskılandığı saptanmıştır. Diğer taraftan MMP-2 sekresyonu, sadece TGF-B1 ve IL-6 tarafından değil, etanol ve metaboliti asetaldehit tarafından da arttırılır. MMP-2, hücrelerin bazal membranında hasar oluşturur ve fibril depolarının oluşmasına neden olur. Etanol ve asetaldehitin aynı zamanda TIMP-2 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (44).

Kronik pankreatitin son evresi, tüm sekretuar hücrelerin kaybı, inflamatuvar hücrelerin ortadan kaybolması ve yoğun fibrozis ile belirlenir. Bu ilerleme, kronik aktif hepatitten karaciğer sirozuna dönüşüme benzerlik göstermektedir (49).

1.1.1.2.1. TNF- α

İnflamasyonda önemli bir role sahip olan TNF- α membrana bağlı pro-TNF olarak esas olarak makrofajlarda sentezlenmektedir. TNF- α dönüştürücü enzim ile oluşan TNF, hücre yüzeyinde bulunan TNFR1-p55 ve TNFR2-p75 denilen iki ayrı reseptörüne bağlanarak etki göstermektedir. TNF- α makrofajların yanında fibroblastlar, astrositler, karaciğerdeki kupfer hücreleri, düz kas hücreleri, keratinositler ve çeşitli tümör hücrelerinden de salınmaktadırlar (50). Akut pankreatit oluşumunda ve şiddetlenmesinde inflamatuvar sitokinlerin önemli rol oynadıkları saptanmıştır. Akut pankreatitte İL-1B, İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir. Bu inflamatuvar sitokinler, aktive makrofajlardan sentezlenmekte ve

lokal olarak pankreatit şiddetini arttırmaktadır. Bu etkiyi, lokal veya sistemik kapiller membran geçirgenliğini arttırarak, lökosit aktivasyonunu ve ekstrasvazasyonu sağlayarak gerçekleştirirler. TNF α 'nın, akut pankreatitin erken evrelerinin oluşumunda esas proinflamatuvar sitokin olduğu düşünülmektedir (51). 2002 yılında WBN/Kob ratlarda spontan olarak oluşan kronik pankreatit modelinde İL-8 ve TNF- α seviyelerinin pankreatit oluşan ratlarda anlamlı olarak daha yüksek oldukları saptanmıştır. Bu durum kronik pankreatit gelişiminde de TNF- α 'nın rolü olduğunu göstermektedir (52).

1.1.1.2.2. İL-6

İnterloklin-6, TNF- α ve İL-1 ile birlikte B hücrelerinin maturasyonunda ve aktif inflamatuvar süreçte rol alan bir sitokindir. Yapılan çalışmalarda İL-6'nın insülin direnci, obezite, inflamatuvar barsak hastalıkları gibi birçok inflamatuvar durumla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca proinflamatuvar sitokinlerden olan İL 6, karaciğerde CRP, fibrinojen, SAA gibi akut faz reaktanlarının sentezinde, T hücrelerinin maturasyonu ve proliferasyonunda da rol oynamaktadır (53). Esas olarak makrofaj ve monositlerden salınan İL6, hücre membranına bağlı bir reseptör olan İL6R- α 'ya bağlanır ve JAK-1 sinyal yolağı ile inflamasyona katkı sağlar. İL-6, JAK-1'i fosforile ederek transkripsiyon faktörü olan STAT3'ü aktive eder. Fosforile hale gelen STAT3 de nükleus üzerine etki ederek inflamasyonun ilerlemesini sağlar. Bu yolak, epitelyal hücrelerde major onkogenik yol olup bu yolak üzerinde IL 6'nın malignite oluşumunda belirleyici olabileceği öngörülmüştür (54).

İnterloklin-6, MAPK yolağını da aktive edebilir ve bu yolla bir protoonkogen olan ras aktivasyonuna yol açar (54).

İnterloklin-6'nın aktive ettiği diğer bir yolak ise çözünebilir İL-6 reseptör alfa yolağıdır. Bu yolakta, serumda serbest halde bulunan İL-6R, İL-6'yı bağlar ve yüzeyinde gp 130 sinyal molekülü bulunan pek çok hücreyi uyarabilir (54)

Pankreatite bağlı ağrı üzerine İL-6 reseptör inhibitörü etkisini inceleyen çalışmada İL-6 reseptör inhibitörü verilmesinin DBTC ile oluşturulan pankreatit modelinde ağrıyı azalttığı saptanmıştır. Bu durum pankreatit patogeneğinde İL-6'nın önemi olduğunu düşündürmektedir (55).

1.1.1.2.3. TGF- β

Ekstraselüler büyüme faktörlerinde olan TGF- β ailesi, yapısal olarak benzerlik gösteren çok sayıda büyüme faktörlerini içermektedir. Bu farklı büyüme faktörleri, hücre proliferasyonu, farklılaşması, motilitesi, adezyonu ve hücre yıkımı gibi birçok hücresel sürecin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır. TGF- β 'nın serin treonin kinaz yapısında 2 adet reseptörü tanımlanmıştır. Tip 1 ve tip 2 reseptör çiftleri birleşerek sinyal aktivasyonunu sağlarlar. Bu sinyal aktivasyonu, SMAD proteinlerinin fosforile edilmesiyle sağlanır. Hou ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada DBTC ile oluşturulmuş kronik pankreatitli ratlarda 28. Günde TGF- β düzeylerinde anlamlı artış saptanmıştır (56). Bu durum kronik pankreatit oluşumunda TGF- β 'nın rolü olduğunu göstermektedir.

1.1.1.2.4. NF κ B

Bir transkripsiyon faktörü olan NF κ B, tüm hücrelerde sitoplazma içerisinde I κ B ile kompleks yapmış olarak inaktif halde bulunur. NF κ B çeşitli uyaranlarla aktif hale geldiğinde IKK enzimi ile I κ B ve NF κ B birbirinde ayrılarak NF κ B serbest hale geçer. Serbest halde bulunan NF κ B, çekirdeğe taşınarak proinflamatuar proteinlerin ekspresyonlarının gerçekleşmesi için transkripsiyonu başlatır.

Nükleer faktör κ B içerisinde fosforilasyon ve post translasyonel modifikasyonlar için bölgeler bulunmaktadır. NF κ B dimerlerinin I κ B moleküllerine bağlanması sadece DNA'ya bağlanmayı önlemez aynı zamanda sitozoldeki konumu da değiştirir. Sitozoldeki konum değişikliği sonucunda NF κ B/I κ B kompleksi sitozol ile nükleus arasında gidip gelmeye başlar ve kompleksin ayrılma ve tekrar birleşme özelliği kazanmasını sağlar (57).

Nükleer faktör κ B aktivasyonu iki şekilde gerçekleşmektedir: I κ B molekülünden ayrılma veya p100 ve p105 öncüllerinin inhibitör özellik gösteren ankirin kısımlarının kesilmesi. I κ B molekülünden ayrılma, I κ B kinaz enzimleri ve en az bir katalitik olmayan aksesuar protein (NF κ B essential modulator-NEMO) ile gerçekleşmektedir. İnhibitör ankirin kısımlarını kesilmesi ise protein kesilmesini sağlayan ubiquitin enzimleriyle gerçekleşmektedir.

İnflamasyonda rol aldığı saptanmış olan NFκB'nin kanser gelişiminde de önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Kanser gelişiminde NFκB, transforme hücreleri hedef alan ve ortadan kaldıran immün defans mekanizmasının parçasıdır. Bu durum, kanser hücrelerine karşı akut dönemde yüksek seviyedeki sitotoksik immün hücre aktivasyonu ile birlikte göstermektedir. Diğer taraftan birçok kanser tipinde NFκB aktive olur ve pro tümörojenik aktivite gösterir (58).

Romatoid artrit, ateroskleroz, KOAH, astım, multipl skleroz, kronik pankreatit, inflamatuvar barsak hastalıkları gibi birçok kronik inflamatuvar hastalık, NFκB aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur (58, 59).

2003 yılında yapılan bir çalışmada akut pankreatit oluşturulan ratlarda NFκB ve İL-6 düzeylerinin yüksek olduğu saptanmış olup bu sitokinlerin akut pankreatit patogeneğinde önemli rol oynadığı düşünülmüştür. Yapılan çalışmalar NFκB'nin akut pankreatitin başlangıcında etkili olduğunu göstermiş olup bu etkinin sadece pankreatik asiner hücreler üzerinde değil akciğer gibi uzak organlarda da görüldüğü saptanmıştır (59). Ayrıca kronik pankreatitte asiner hücrelerde süregelen NFκB aktivasyonu olduğu saptanmıştır (60).

1.1.1.3. Etiyoloji

Erişkinlerde kistik fibrozis hariç kronik pankreatitin %90-95 nedeni, alkol veya idiyopatikdir. Kronik pankreatit etiolojisinde enfeksiyöz nedenler nadirdir (61). Kronik pankreatit nedenleri, ilk harflerden yola çıkılarak TIGAR-O adı verilen bir sınıflama ile değerlendirilebilir (Tablo 1).

Tablo 1. Kronik pankreatitin etyolojik sınıflaması (TIGAR-O) (2)

TİGAR-O Sınıflandırması
Toksik-metabolik
Alkolik
Sigara
Hiperkalsemi
Hiperlipidemi
Kronik böbrek yetmezliği
İdiyopatik
Tropikal
Nedeni bilinmeyen
Genetik
Otozomal dominant
Katyonik tripsinojen
Otozomal resesif
CFTR mutasyonu
SPINK1 mutasyonu
Kimotripsin-C
Diğer
Otoimmün (Autoimmune)
Tip 1
Tip 2
Rekürren ve şiddetli akut pankreatit
Postnekrotik
Vasküler hastalıklar/iskemi
Radyasyon maruziyeti
Obstrüktif
Pankreas divisum
Oddi sfinkter disfonksiyonu
Pankreatik kanal obstrüksiyonu

1.1.1.3.1. Alkolik

Alkol, Avrupa, ABD, Brezilya, Meksika, Avustralya, Güney Afrika ve Güney Kore’ de kronik pankreatitin başlıca nedenidir (14, 27, 62) yapılmış çalışmalarda aşırı alkol tüketiminin kronik pankreatitlerin %34 ve %44’ ünde esas nedeni oluşturduğu gösterilmiştir.

Deneyisel çalışmalar, pankreasın etanolü etkin biçimde metabolize ettiğini göstermesine rağmen etanol metabolitleri in vitro ortamda asiner hücrelere hasar oluşturmakta ve stellat hücrelerini aktive etmektedirler (63, 64). Ayrıca uzun süreli etanol alımının kronik pankreatite neden olmadığı, pankreasın egzokrin fonksiyonlarında azalma meydana getirdiği saptanmıştır (65). Bu nedenle günde 150 gr ve üzerinde etanol tüketen kişilerde 15 yıl veya daha fazla latent periyodun bulunması şaşırtıcı değildir. Ayrıca aşırı miktarda alkol alanların %10’ unda hastalık gelişmektedir (66). Sonuç olarak diğer faktörlerin etanol etkisini arttırmasına bağlı etanol toksisitesinin oluştuğu düşünülmektedir.

Hayvan modellerinde etanolün düşük dozları, CYP2E1’ i uyararak hayvanın maruz kaldığı diğer toksik maddelerin toksisitesini arttırmaktadır. Ayrıca CYP2E1, kronik aşırı etanol alımı durumunda etanolü metabolize eden esas yolaktır (67) ancak bu yolakta reaktif oksijen bileşiği oluşur (68).

1.1.1.3.2. Diğer toksik nedenler

Sigara, kronik pankreatit için güçlü bir bağımsız faktör olarak bilinmektedir (69) Bu ilişki, inhalasyon toksikolojisiyle ilgili yapılan hayvan deneylerinde de doğrulanmıştır (70, 71). Birleşik Krallık’ ta yapılan bir vaka kontrol çalışmasında mesleki uçucu hidrokarbonların da kronik pankreatit gelişiminde bağımsız bir risk faktörü olduğu saptanmıştır (72). Hindistan ve Güney Afrika’ da yapılan çalışmalarda sırasıyla kerosen ve parafin ile benzer ilişki belirtilmiştir (73, 74).

1.1.1.3.3. Dibutiltin diklorit

Kronik pankreatit modeli oluşturmak için kullanılan dibutiltinin katalizör olarak özellikle boya sanayinde kullanılmasının yanında daha birçok endsütriyel alanda kullanımı mevcuttur. Dibutiltinin kronik pankreatit yapıcı etkisinin alkol ile daha da şiddetli hale geldiği saptanmıştır (75).

Dibutiltin dikloritin intravenöz veya intraperitoneal, 6 veya 8 mg/kg tek doz uygulaması sonrasında interstisyel pankreatit olduğu, doza, veriliş yoluna ve süreye göre pankreatik kanal çaplarında genişleme ve epitelyal hücrelerde yıkım olduğu gözlenmiştir. Akut interstisyel pankreatit oluşan hayvanlarda biliyopankreatik kanal epitelinde nekrozun oluşmaya başladığı ve distal ortak safra kanalında tıkalı pıhtılar olduğu belirtilmiştir. Pankreas interstisyumunun mononükleer hücrelerle yaygın infiltrasyonundan 7 gün sonra fibrozis geliştiği saptanmıştır. Ayrıca Uygulamadan 2 ay sonra bile aktif inflamatuvar prosesin devam ettiği gösterilmiştir (76).

1.1.1.3.4. İdiyopatik

Hindistan ve Çin’deki kronik pankreatit vakalarının %60-70 i, Japonya’daki vakaların yaklaşık yarısı idiyopatik olarak sınıflandırılmıştır (77). Nedeni bilinmeyen kronik pankreatitli hastaların yer aldığı bu gruptaki hasta oranının etiyolojiye yönelik edinilen bilgiler arttıkça düşeceği düşünülmektedir (36).

1.1.1.3.5. Tropikal pankreatit

Tropikal pankreatit, gençlerde görülen diyabet ve büyük pankreatik kalküllere yatkınlığı daha fazla olan bir hastalıktır. Bu hastalık esas olarak Asya, Afrika ve Orta Amerika’daki gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir. Hastalığın görülmesinde malnütrisyonun ve çeşitli siyanojenik glikozitlerin etkili olabileceği belirtilmiştir. (78). 2008 yılında yapılan bir çalışmada tropikal pankreatitin hindistan’daki kronik pankreatitli vakaların %3-8’ini oluşturduğu saptanmıştır (79).

1.1.1.3.6. Genetik

Normal olarak, tripsinojen pankreasta olması gerekenden önce aktive olursa SPINK1 tarafından inhibe edilir ve sonra pankreas, yıkım sürecine girer veya tripsin tarafından aktive edilen proteazlar tarafından yıkılır (34). Bu mekanizmaların hiçbiri gerçekleşmezse potent inhibitör olan glutatyon devreye girer (80).

Hereditör pankreatit, otozomal dominant olarak kalıtılan PRSS1 genindeki mutasyondan kaynaklanır (63). Bu gendeki mutasyon sonucunda SPINK1 tarafından yıkıma dirençli tripsin oluşumu gerçekleşmektedir (81). Bununla birlikte SPINK1’de fonksiyon kaybına yol açan mutasyon varlığı da kronik pankreatit ile ilişkilidir

ancak bu ilişkinin hastalığa direkt neden olmaktan daha çok hastalığa yatkınlık oluşturan veya hastalığı düzenleyici bir faktör olduğu düşünülmektedir. Pankreatitten koruyucu PRSS2 geninde de fonksiyon kaybına yol açan mutasyon saptanmıştır (82-84).

Hereditör pankreatitli hastalarda pankreas kanseri riski artmış olmasına rağmen normal popülasyona göre mortalitede artış saptanmamıştır (85).

Asiner hücrelerin lümene bakan kısımlarında bulunan CFTR' yi kodlayan gendeki mutasyonlarda da kronik pankreatit gelişir (83). Sentroasiner hücrelerin komşuluğunda bulunan duktal hücrelerin lümene bakan membranlarından bikarbonat ve glutatyon transportunu sağlayan CFTR genindeki mutasyon varlığında hastalarda kistik fibrozisin atipik bir formu görülür. Sadece genetik mutasyon varlığında değil elektrofilik stres varlığında da CFTR inaktive olur (86).

CFTR ve SPINK1 mutasyonları pankreatit gelişen hipertrigliseridemili ve hiperparatiroidili hastalarda da gösterilmiştir (82).

1.1.1.3.7. Otoimmün

Otoimmün pankreatit, kronik pankreatitli vakaların %2-4' ünü oluşturur (87). Hastalık, multisistem hastalığın bir parçası olabileceği gibi (tip 1), sadece pankreası da etkileyebilir (tip 2) (88). Pankreatik duktal hücrelerdeki HLA-DR1 ekspresyonunun bozulması sonucu otoantijenlerin lenfositlere sunulduğu düşünülmektedir. Laktoferrin (89), karbonik anhidraz, SPINK1 ve asiner hücrelerde H.pylorinin plazminojen bağlanma proteini ve ubiquitin-protein ligaz ile benzer aminoasit bölgeleri içeren bir peptit, otoimmünitede suçlanan pankreasa spesifik antijenlerdir (90, 91). Sah ve ark (92) tarafından yapılan bir çalışmada, otoimmün pankreatitin uzun dönemde yaşam süresini etkilemediği belirtilmiştir.

1.1.1.4. Patogenez

Kronik pankreatitte hastalığın patofizyolojisi tam anlamıyla aydınlatılmış değildir. Hastalığın patogeneziyle ilgili teoriler 5 ana başlık altında toplanabilir:

Duktal teori hipotezi, hastalığın temelini oluşturan esas unsurun pankreatik kanal ile ilişkili olduğunu ileri sürmektedir. Bu hipotezin merkezinde kronik pankreatitin kalsifiye olan protein depozitleri, pankreatik sıvının stazı, safra ve

duodenal sıvının reflüsü ve primer otoimmün atak gibi mekanizmalarla oluştuğu düşünülmektedir (30).

Asiner teoride, alkolün direkt etkisiyle, hücrelerin kolesistokinine hassasiyetlerinin artması ve özellikle endotoksin varlığında CYP2E1 ile asiner hücrelerin hasarı esas patoloji olarak düşünülmektedir (63).

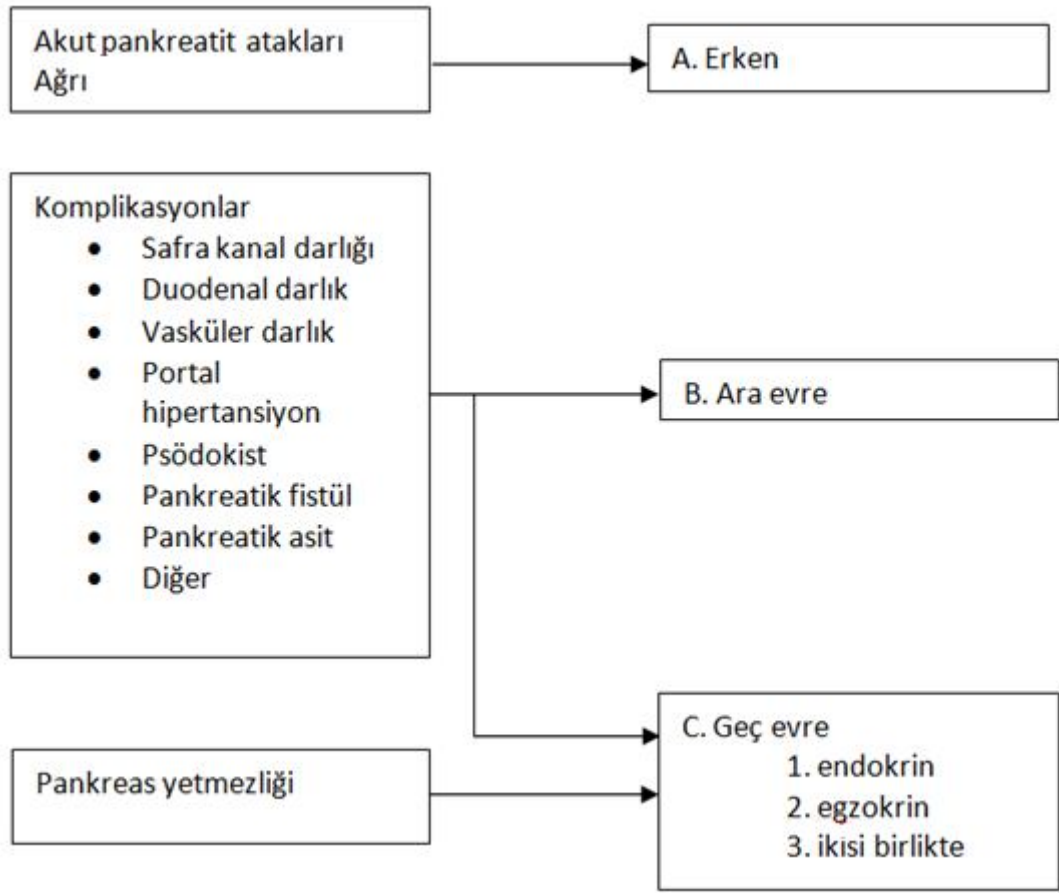
Çift vuruş hipotezinde daha önceden belirtilen duktal veya asiner nedenlerin ikisinin biri araya gelmesi ile periduktal hasar meydana gelmektedir. Özellikle çift duktal hasar hipotezi en popüler teori olup periduktal fibroza neden olan tekrarlayıcı nekrozun etkili olduğu düşünülmektedir (36). İlk pankreatit atağında düzensiz tripsin aktivitesi nedeniyle asiner hücrelerde hasar meydana gelir, bu atak makrofajları aktive edecek kadar şiddetliyse bezde hasar oluşturan stellat hücre aktivasyonu meydana gelir. Stellat hücre aktivasyonu sonucunda da pankreas, fibrozis sürecine girer.

Toksik–Metabolik teorisi, alkolün asiner hücrelerde sitoplazmik lipid birikimine neden olarak yağlı dejenerasyon, hücresel nekroz ve sonuçta fibroza yol açtığını ileri sürer. Toksik metabolik stres teorilerinden olan elektrofilik stres teorisi, elektrofilik strese karşı glutatyon korumasının yetersizliğine bağlı gelişen parasetamol veya karbontetraklorit ile oluşan hepatotoksisiteye benzemektedir (43).

Oksidatif stres teorisi ise kronik pankreatit oluşumundaki asıl nedenin karaciğerdeki multifonksiyonel oksidazların aşırı aktivasyonu olduğunu ileri sürer. Oluşan bu oksidatif stres, pankreasa sistemik dolaşım veya safranin pankreatik kanala reflüsü yoluyla ulaşır ve sonuçta pankreasta doku hasarı meydana gelir (5). Kronik pankreatit gelişiminde ortaya atılan bu beş teori de bilimsel değer taşımaktadır fakat vakaların tümünün bir tek teori ile açıklanması mümkün değildir.

1.1.1.5. Klinik Özellikler

Kronik pankreatit, dört şekilde görülebilir: belirgin akut veya tekrarlayan akut pankreatit, sürekli devam eden ağrı, lokal komplikasyon belirtileri veya egzokrin ve-endokrin pankreatik yetmezlik düşündürülen bulgular. Bu klinik özelliklerden yola çıkılarak kronik pankreatit klinik evrelemesi oluşturulmuştur (49) (Şekil 2).



Şekil 2. Kronik pankreatit klinik evrelemesi (49)

1.1.1.5.1. Ağrı

Kronik pankreatitte ağrı, şiddetlidir ve ataklar halinde veya sürekli karakterde olabilir. Epigastrik bölgede başlar ve sırta yayılır veya sol üst kadranda başlayıp sol infraskapular bölgeye yayılabilir. Ağrıya bazen bulantı ve kusma eşlik edebilir. Ayağa kalkmakla, öne eğilmekle veya epigastrik bölgeye lokal ısı uygulamasıyla rahatlayabilir. Ağrı, yemek yemekten korkmaya ve dolayısıyla kilo kaybına neden olabilir.

Geçmişte ağrının pankreas kanal tıkanıklığına bağlı olduğu düşünülmüş olup tıkanıklığı açmaya yönelik invaziv yöntemler ve çeşitli operasyonlar tedavi seçeneği olarak uygulanmıştır. Ancak bazı hastalarda şiddetli ağrı olmasına rağmen pankreatik kanalda herhangi bir tıkanıklık bulgusuna rastlanmaması ve kanal tıkanıklığı olmasına rağmen ağrı olmaması, ağrı patofizyolojisinde başka etkenler olduğunu da düşündürmüştür (93).

Pankreasta bulunan nosiseptif nöronlar, kronik inflamasyon durumunda büyürler ve inflamatuvar odağın çevresinde bulunurlar. Pankreatik enzim olan tripsin çok güçlü bir biçimde pankreastaki bu nöronları aktive eder. Bu nöronlar, spinal korddaki ikincil nöronları uyararak bu nöronların sensitivitelelerini artmasını sağlarlar. Sensitivitedeki bu artış nedeniyle hiper-aljezi (artmış ağrı hissi) ve allodini (normal uyarının ağrı olarak algılanması) ortaya çıkar. İkincil nöronlar da beyindeki üçüncül nöronları etkileyerek ağrıya fiziksel ve duygusal cevapların oluşmasını sağlar (93).

Birçok çalışmada hastalığın tüm pankreasta fibrozise yol açması sonrasında ağrının azaldığı gösterilmiş olup bu durum, asiner hücrelerin ağrı oluşumunda önemli olduğunu düşündürmektedir (94, 95). Ağrının şiddeti nedeniyle hastalar, narkotik analjezikler kullanmakta ve meydana gelebilecek bağımlılık sonucunda işlerini, ailelerini ve evlerini kaybedebilmektedirler (96).

Mast hücrelerinin granüllerinden salınan ürünler ve hidrojen sülfid, ağrının pankreas ile ilgili kısmında rol oynamaktadır (97).

Epigastrik bölgede şişlik olması, psödokist, inflamatuvar kitle veya kanser varlığından şüphelendirmektedir.

Hastaların hemen hepsinde ağrı görülür ancak %10-15 kadarında steatore, diyabet ve sarılık ile kendini gösterebilir. Bu hastalar genellikle idiyopatik pankreatiti olan yaşlılar veya otoimmün pankreatitli hastalardır (94, 98).

1.1.1.5.2. Malabsorbsiyon

Kronik pankreatitte önemli klinik durumlardan biri de malabsorbsiyondur. Malabsorbsiyon, kronik diyare, steatore, kilo kaybı ve yorgunluk ile kendini gösterir. Kronik karın ağrısı, malabsorbsiyona neden olabilir ancak malabsorbsiyon olan hastalarda %20 oranında karın ağrısı görülmeyebilir. Kronik pankreatitli hastalarda steatore olmasına rağmen yağda eriyen vitaminlerde eksiklik çok sık değildir. Alkolik pankreatitte ilk pankreatit atağıyla asiner hücrelerin %95 kaybolduğunu gösteren steatore görülmesine kadar geçen süre, yaklaşık olarak 13 yıldır. Erken başlangıçlı idiyopatik pankreatitte ve herediter pankreatitte bu süre daha uzundur (94). Kronik pankreatite bağlı diyabet gelişimi steatore ile birlikte veya kısa bir süre sonra ortaya çıkar (99).

1.1.1.6. Tanı

1.1.1.6.1. Laboratuvar yöntemleri

Kronik pankreatitte hastalığın yavaş seyri ve nadir görülmesi nedeniyle tarama yapılmamaktadır. Özellikle ağrı, malabsorbsiyon ve kronik pankreatit komplikasyonlarına bağlı klinik bulgular olması durumunda laboratuvar tetkikleri ve radyolojik yöntemlerle tanıya ulaşılmaya çalışılır.

Kronik pankreatitte akut pankreatitten farklı olarak serum amilaz ve lipaz düzeylerinde genellikle aşırı yükselme olmaz. Serum bilirübin ve alkalen fosfataz düzeylerinde yükseklik, kronik inflamasyona bağlı olarak ortak safra yolunda oluşan darlığa işaret edebilir. Bazı hastalarda yetersiz glukoz toleransı nedeniyle açlık glukoz düzeylerinde yükseklik saptanabilir. Pankreatik egzokrin fonksiyonlarda %60' tan fazla azalma olması durumunda sekretin stimülasyon testinde anormallik saptanır. Testin anormallığı, genellikle kronik ağrının başlangıcıyla eş zamanlıdır. Daha erken dönemde yapılan çalışmalarda kronik pankreatitli hastaların %40' ında vitamin B12 malabsorbsiyonu görülür ve genellikle oral pankreatik enzim ekstraktı kullanımı ile düzelir. Pankreatik steatoreden şüphelenilen hastalarda fekal elastaz ve ince barsak biyopsisi faydalı olabilir. Bu hastalarda fekal elastaz anormal olup biyopsi normal olabilir. Fekal elastazın 100 mcg/gram seviyesinin altına düşmesi durumunda şiddetli pankreatik egzokrin fonksiyon yetersizliği düşünülür.

1.1.1.6.2. Görüntüleme yöntemleri

Kronik pankreatit tanısında radyolojik tetkiklerden de yararlanılır. Ayakta direkt batın grafisinde pankreatik bölgede diffüz kalsifikasyon, pankreasta ilerlemiş hasar göstergesidir. Pankreatik kalsifikasyonun en sık nedeninin alkol olmasına rağmen benzer kalsifikasyon herediter pankreatit, post-travmatik pankreatit, hiperkalsemik pankreatit, adacık hücre tümörleri, idiyopatik kronik pankreatit ve tropikal pankreatitte de görülebilir. Abdominal USG, BT ve MRKP tetkikleri de kronik pankreatit tanısında faydalıdır. Ultrasonografi ve BT gibi görüntüleme yöntemleriyle %70-90 oranında tanı konulabilmektedir. USG' nin kronik pankreatitte duyarlılığı %70; özgüllüğü ise %90 civarındadır. BT' de kalsifikasyon, genişlemiş kanallar ve atrofik pankreas saptanabilmekle birlikte ayırıcı tanıda düşünülmesi

gereken psödokist ve pankreatik kanser de dışlanabilir. ERKP' nin duyarlılığı %90, spesifitesi %100' e yakın olup tanıda en tercih edilen yöntemdir. MRKP, pankreatik kanalın direkt olarak görüntülenmesini sağlar ve ERKP' nin kontrendike olduğu durumlarda tanıda tercih edilen yöntemdir. ERKP' de erken dönemde ince kanallarda genişleme ve düzensizlik görülmekle birlikte orta şiddetteki inflamasyonda ana safra kanallarında dolgunluk ve darlık saptanabilir. Şiddetli pankreatitte ise ana safra kanalının genişlemesi ve pankreasın normal görünümünün tamamen kaybolması görülür (5).

Endoskopik ultrasonografinin kronik pankreatit tanısındaki kullanımı araştırılmaktadır. Kronik pankreatit tanısında geleneksel 9 özellikli sistem veya Rosemont kriterleri kullanılır. Ancak EUS ile saptanan anormallikler spesifik olmayıp kronik pankreatit tanısında yeterli görülmemektedir. Yani EUS, kronik pankreatit açısından yüksek sensitiviteye sahiptir ancak spesifitesi düşüktür (100).

1.1.1.6.3. Histopatoloji

Kronik pankreatitin kesin tanısı biyopsi materyalinin histopatolojik incelemesiyle konulmaktadır. Kronik pankreatitteki inflamasyon infiltrasyon ve fibrozis durumunu belirten bazı histolojik bulgular, etyolojiye yönelik bilgiler verebilir (101). Fibrozis gelişimi, pankreas hasarının başladığı bölge ile ilişkili olarak inter (peri) lobüler veya intralobüler olabilir. Kronik pankreatit, kişiden kişiye farklılık gösterir. Aynı etyolojik nedenle gelişmiş kronik pankreatit olgularında hastalık bazen yavaş seyir gösterirken bazen de çok hızlı ilerleyebilir.

1.1.1.6.3.1. Alkolik kronik pankreatit

Alkolik kronik pankreatitin erken evrelerinde pankreatik bezlerde düzensiz dağılmış fibrozis görülür. Bezlerin tutulan bölgelerinde şişlik ve genişleme oluşabilir, ayrıca kesit yüzeyinde lobülasyon ve nodüler skar oluşumu görülebilir. Fibrotik dokuya yerleşmiş kanallarda düzensizlik ve nadiren taş oluşumu saptanabilir (102). Histolojik olarak erken evrede inter (peri) lobüler bölgede hücreden zengin fibrozis görülür. Tutulan intralobüler kanallar genişlemiştir ve eosinofilik sekresyon içerebilir. Ayrıca epitelde metaplastik veya hiperplastik değişiklikler de görülebilir. Lenfosit, plazma hücreleri ve makrofajlar lokal kümeler halinde veya fibröz doku

içinde diffüz olarak bulunabilirler. Perilobüler dokuda, çok sayıda vakuollü makrofajın bulunduğu düzelmekte olan yağ nekrozu ve çevre dokuda hücreden zengin fibrozis görülebilir (36).

İlerlemiş kronik pankreatitte, pankreas sert bir yapı kazanır ve normal lobülasyon kaybolarak düzensiz kontürlü bir duruma gelir (103). Fibrozis, tüm bez yapıyı diffüz olarak tutabilir fakat nadiren lobüler yapının yer yer korunduğu düzensiz dağılımlı fibrozis görülmeye devam edebilir. Pankreatik kanallardaki değişikliğin şiddeti, kanal çevresindeki fibrozis yayılımı ile ilişkilidir. Bununla birlikte ana pankreatik kanal fokal olarak tıkanabilir ve/veya genişleyebilir veya diffüz olarak irregüler dilatasyon görülebilir (104).

İlerlemiş kronik pankreatitte fibrozis değişik derecelerde pankreas parankimini tutar (105). Bazı alanlarda sadece perilobüler fibrozis görülürken diğerlerinde seyrek lenfositik infiltratın bulunduğu diffüz intralobüler fibrozis saptanır. Kanal epitel atrofik veya polimorfonükleer inflamatuvar doku ile değişmiş olarak bulunur. İntralobüler fibrozis alanlarında adacıklar, kalın duvarlı kan damarları, bazı sinirler ve asiner hücrelerin kalıntıları da bulunabilir (106).

İmmünohistokimyasal çalışmalarda kanal epitelinde yaygın olarak HLA-DR ve TGF α , β ve PDGF gibi sitokinlerin eksprese edildiği ve bunların fibroblastlar, makrofajlar ve/veya plateletlerde de bulunduğu saptanmıştır (107, 108).

1.1.1.6.3.2. Herediter pankreatit

İlerlemiş kronik pankreatitte protein tıkaçı veya kalkül içeren kanallarda dilatasyon saptanır. Fibrozis, periduktal ve interlobüler patern gösterebilir. Bazı orta büyüklükteki kanallarda nekroz görülmesi, periduktal alanda yoğun kronik inflamasyona öncülük etmektedir. Bu bilgilerden yola çıkarak herediter kronik pankreatitte hasara neden olan durumun kanal lümeninde geliştiği düşünülmektedir (109).

1.1.1.6.3.3. Otoimmün pankreatit

Otoimmün pankreatitin makroskopik görünümü pankreatik duktal adenokarsinom ile benzerlik gösterir. Pankreatitte inflamatuvar proses, genellikle pankreas başında görülür ve etkilenen doku kısmı, lobüler yapının bozulduğu gri,

sarı-beyaz şişlik şeklindedir. Bu değişiklikler, ana pankreatik kanalın ve genellikle distal safra kanalının tıkanmasına neden olur (110).

Otoimmün pankreatitteki histolojik değişikliklerin en önemli özelliği, orta-geniş interlobüler pankreatik kanalların çevresindeki yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonudur. Küçük kanallar, ancak çok şiddetli pankreatit durumlarında tutulur. İnflamatuvar infiltrat, esas olarak lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşur ancak makrofaj, bazı vakalarda da nötrofil ve eozinofil içerebilir. İnfiltrat, kanalda daralmaya neden olabilir. Geç evrelerde, kanal duvarı periduktal fibrozis nedeniyle kalınlaşır (111).

1.1.1.6.3.4. Ki67

Ki-67 proteini ekspresyonu, hücre proliferasyonu ile ilişkilidir. Hücre bölünmesi için gerekli olan proteinlerin kromozom üzerinde yerleştiği interfaz evresinde Ki-67, hücre çekirdeğinde yoğun olarak saptanabilir. Aslında Ki-67 proteini, hücre siklusundaki tüm aktif dönemlerde mevcuttur, sadece istirahat halindeki hücrelerde saptanamaz. Bu nedenle hücrelerin çoğalma ve büyüme dönemlerini belirlemek için yararlı bir belirteçtir. Ki-67 pozitif tümör hücrelerinin yüzdesi (Ki-67 etiketleme indeksi) hastalıkların klinik durumları ile korelasyon göstermektedir. Bu konuda en fazla meme ve prostat kanserleri ile ilgili çalışma yapılmıştır. Bu tümör tiplerinde, tek tönü ve çok yönlü varyasyon analizlerinde yaşam süreleri ve tümör rekürrensi üzerine prognostik değeri olduğu saptanmıştır (112).

1.1.1.7. Komplikasyonlar

1.1.1.7.1. Psödokist

Psödokist oluşumu, hem akut hem de kronik pankreatitte görülen, pankreatik enzimlerden zengin fibröz doku ile çevrili sıvı koleksiyonudur. Kronik pankreatitli hastaların %30-40' ında psödokist geliştiği belirtilmiştir. Abdomen USG ve BT ile tanısı konulabilen psödokistlerin diğer peripankreatik kistlerden ayırıcı tanısının yapılmasında endoskopik ultrasonografi eşliğinde aspirasyon değerlidir. Psödokistin boyutları ve uzun süre sebat etmesi, enfeksiyon, kanama, gastrik çıkış yolu obstrüksiyonu gibi komplikasyonların görülme riskini arttırmaktadır (113).

1.1.1.7.2. Psödoanevrizma

Kronik pankreatit nedeniyle pankreastan sızan pankreatik enzimlerin pankreasta ve çevresindeki damarlarda oluşturduğu hasara bağlı gelişen bir komplikasyondur. Damarlarda uzun süreli devam eden hasar sonucunda kronik pankreatite bağlı psödokiste invazyon gerçekleşmesi psödoanevrizma oluşur. Psödoanevrizma oluşumuyla ilgili şiddetli inflamasyon veya pankreastaki enzimlerin sindirime bağlı olarak pankreatik ve peripankreatik arterlerde hasar oluşumu, psödokistin çevresindeki damarsal yapılarla birleşmesi ve psödokistin barsak duvarında hasar oluşturması gibi mekanizmalar da düşünülmektedir (114, 115). Rüptür olması durumunda genellikle üst gastrointestinal sistem kanaması şeklinde kanama görülür ancak direkt olarak peritoneal veya retroperitoneal kanamaya da neden olabilir. Psödoanevrizmaya bağlı kanamalar %4 ile %10 arasında görülebilir ve bu kanamalarda en sık tutulan damar, splenik arterdir. Splenik arterden daha az sıklıkta gastroduodenal, pankreatikoduodenal ve hepatik arterlerden de kanama meydana gelebilir (108-120).

1.1.1.7.3. Pankreatik assit

Nadir görülen bu komplikasyon, pankreatik sıvının sızması veya direkt olarak duktal hasara bağlı olarak oluşur. Yüksek morbidite ve mortalite riski olan bu komplikasyon sadece kronik pankreatitte değil akut pankreatit ve pankreatik travmada da görülebilir. Tanı için fizik muayene, görüntüleme yöntemleri, asit sıvısı analizleri kullanılabilir. Tanıdan şüphelenen en önemli özellik, asit sıvısında yüksek amilaz seviyesidir. Tedavi seçenekleri altta yatan nedene göre değişiklik gösteren hastalığın tedavi sonrası prognozu genellikle iyidir (121).

1.1.1.7.4. Splenik ven trombozu

Pankreatite bağlı splenik ven trombozu hem akut hem de kronik pankreatitte görülebilen bir komplikasyondur. Splenik ven trombozu etyolojisinde birçok neden belirtilmiş olsa esas nedeni pankreas ile ilişkili durumlardır (122). Önceleri neoplaziye bağlı olduğu (123) düşünülse de sonradan yapılan çalışmalarda akut ve kronik pankreatitin etyolojide daha önemli olduğu saptanmıştır (124-127). Etiyolojisi ne olursa olsun splenik ven trombozu, lokalize bir portal hipertansiyon durumu

oluşturur. Splenoportal veya gastroepiploik sistemlerle olan kollateral kan akımı sonucunda gastrik, özefagial ve kolonik varislere yol açan venöz genişlemeler oluşur. Önceden üst gastrointestinal kanama öyküsü olan veya semptomatik splenomegali saptanan hastalar, pankreasa bağlı splenik ven trombozu açısından yüksek riskli kabul edilirler (128). Önceden üst gastrointestinal kanama öyküsü olmayan hastalarda görüntüleme yöntemleriyle splenik ven trombozu saptanmışsa 34 aylık izlemde kanama insidansının sadece %3.8 olduğu saptanmıştır (129). Yapılan bir çalışmada akut veya kronik pankreatitli hastalarda splenik ven trombozu görülme oranı %14.1 olarak saptanmıştır. Kronik pankreatitlilerde %12.4 olan bu oran, akut pankreatitli hastalarda %22.6 ile daha yüksektir. Pankreatite bağlı splenik ven trombozu olan hastaların %51.9' unda splenomegali saptanırken, %53' ünde gastrointestinal varislerin varlığı tespit edilmiştir. %77.3' ü midede yer alan bu gastrointestinal varislerin kanama oranı da %12.3 olarak saptanmıştır (130).

1.1.1.7.5. Pankreatik diyabet

Diyabetik hastaların %0.5-1.7 nedeni, akut-kronik pankreatit, neoplaziler, travma, pankreatektomi gibi pankreatik hastalıklar olup bunlar içerisinde de en sık neden, (yaklaşık %60) pankreas rezeksiyonudur (131).

Kronik kalsifiye pankreatitin geç dönemde görülen bir komplikasyonu olan diyabetes mellitus hastanın yaşı ile korelasyon göstermektedir. 70 yaş üzerindeki karın ağrısı olan hastalarda görülme sıklığı artmıştır. Pankreas Beta hücrelerinin %20-40' ı kalana kadar kronik pankreatitli hastalarda açlık plazma glukozunda artış gözlenmez. Diyabet gelişmeden önce bazı hastalarda adacık hücre antikorlarının görülmesi, kronik pankreatite sekonder diyabet gelişiminde otoimmünitenin rolü olduğunu düşündürmektedir. Oral glukoz alımına insülin cevabı ile kolesistokinin sonrası duodenal sıvıdaki pankreatik enzim miktarı, korelasyon göstermektedir. Ayrıca steatoresi olan hastalar, egzokrin fonksiyon bozukluğu daha az olan hastalara göre daha az C-peptit salgırlar. Bu şekilde pankreas endokrin ve egzokrin fonksiyonlarının korelasyon göstermesi, kronik pankreatit ile diyabet arasında direkt olarak sebep- sonuç ilişkisi varlığını da düşündürmektedir (132).

Hastalar tanı aldığında çoğunlukla pankreatik kanalda taş mevcuttur. İmmünohistokimyasal çalışmalarla pankreas adacık hücrelerinin bir kısmının etkilenmediği gösterilmiş olsa da hastalar genellikle insülin kullanmak durumundadır. Adacık hücrelerinin tamamının hasarlanmaması nedeniyle ketoasidoz nadiren görülmektedir. Hastalarda tip 1 diyabetten farklı olarak sadece beta hücreleri değil tüm pankreatik hücrelerde hasar olduğundan glukagon ve pankreatik polipeptit gibi maddelerin salınımında da yetmezlik görülür. Bu nedenle normal diyabet hastalarına göre glukagon cevabı bozulduğundan hipoglisemi riski daha yüksektir ve daha uzun sürebilir (133).

1.1.1.7.6. Pankreas Kanseri

Pankreatit, pankreas kanseri için bir risk faktörü olarak düşünülmektedir. 22 çalışmanın incelendiği bir meta analizde pankreas kanseri gelişmesi için saptanan rölatif risk; sınıflandırılmamış pankreatitlilerde 5.1, kronik pankreatitlilerde 13.3, hereditör pankreatitlilerde 69' dur. Bununla birlikte kronik pankreatitli hastaların 20 yıllık izleminde sadece %5 oranında pankreas kanseri geliştiği belirtilmiştir (134). Kronik pankreatitteki kronik inflamatuvar durum nedeniyle pankreasta metaplazi ve neoplazi oluştuğu düşünülmektedir. Oluşan sitokinler ve reaktif oksijen bileşiklerinin DNA' da hasara neden olduğu, K-ras, p16 ve p53 gibi onkojenik mutasyonları sonucunda da pankreas kanseri geliştiği belirtilmiştir (135). Ayrıca PRSS1, PRSS2, SPINK1 ve CFTR gibi genlerde mutasyonun saptandığı hereditör pankreatitli hastalarda pankreas kanseri gelişmesi için kümülatif risk % 40-50 olarak saptanmıştır (134).

Kronik pankreatitten pankreas kanseri gelişiminde, pankreatik intraepitelyal neoplazi (PANİN) denilen invazyon yapmayan lezyonların geçiş basamağını olduğu düşünülmektedir. Bu lezyonlar, mikroskobik olarak düz veya papiller olabilen kolumnar veya kuboidal epitelden oluşan çeşitli düzeylerde müsin içeren lezyonlardır. PANİN genellikle pankreas adenokarsinomlarının komşuluğundaki parankimde bulunmaktadır. PANİN oluşumu için KRAS mutasyonu, p16/INK4a/CDKN2A, TP53 ve SMAD4/DPC4 kaybı gibi invaziv pankreas

kanserinde görülen genetik değişiklikler, PANİN' li olguların yaklaşık %90' ında saptanmıştır (136).

1.1.1.8. Tedavi

Kronik pankreatit tedavisinde ağrı, endokrin ve egzokrin pankreatik yetmezlik, malabsorbsiyon, obstrüksiyona yönelik invaziv girişimler, komplikasyonların tedavisi amaçlanır.

1.1.1.8.1. Ağrı tedavisi

Ağrı tedavisinde ilk basamak, pankreatite bağlı komplikasyon varlığını araştırmaktır. Komplikasyon gelişmesi durumunda her zaman ağrı olmamakla birlikte komplikasyon olması durumunda ileride belirtileceği gibi daha özellikli tedavi seçenekleri uygulanmalıdır.

Ağrı tedavisi genellikle medikaldır ancak eğer hastalık oluşumunda sigara veya alkol tüketiminin etkisi varsa bu etkenlerin bırakılması durumunda da ağrıda azalma meydana gelir. Daha da önemlisi alkol veya sigaranın bırakılması, pankreatitin ilerlemesini yavaşlatarak pankreatik diyabet ve pankreas kanseri gibi ciddi morbidite ve mortalite sebebi olabilecek komplikasyonların oluşumunu azaltır (137).

Ağrı tedavisi için hastaların hemen hepsinin analjezik kullanması gerekmektedir. Yapılan çalışmalar hastaların yarıya yakınının opioid analjezik kullandığını göstermektedir. Bağımlılık riski taşıyan bu ilaçları kullanma sonucunda hastaların %20' den azında bağımlılık geliştiği saptanmıştır. Bağımlılık gelişen hastaların genellikle pankreatit öncesinde sigara kullanan, alkol bağımlılığı veya ilaç bağımlılığı olan kişiler olduğu belirtilmiştir (93).

Ağrı tedavisinde esas amaç, ağrının azalmasıdır. Bağımlılık riskini de göze alarak tedaviye en az potent opioidle başlamak uygun olmaktadır. Günlük 200-400 mg tramadol önerilebilmekle birlikte bazı hastalarda daha yüksek dozlar gerekebilmektedir. Daha potent narkotikler gerekebilir ancak yavaş yavaş bu ilaçlara geçmek, düşük dozdan başlayıp gerektiğinde arttırmak daha uygun olur. Narkotik ilaç kullanımında esas amaç ağrıyı tamamen ortadan kaldırmak değil azaltmak olmalıdır. Opioidlerle birlikte kronik ağrı sendromlarını engellemek için trisiklik

antidepresanlar, selektif serotonin gerialım inhibitörleri, serotonin-norepinefrin gerialım inhibitörleri ve gabapentoidler kullanılabilir. Bunların içinde pregabalinin kronik pankreatitte kullanımı ile ilgili randomize kontrollü çalışmada plasebo ile karşılaştırıldığında gabapentinin ağrıda ve opioid kullanımında azalmaya neden olduğu saptanmıştır (138).

Ağrı tedavisinde medikal olarak pankreatik enzimler, oktreotid, antioksidanlar ve birçok tedavi çeşidi kullanılmıştır. Pankreatik enzimler, ağrıda yeterli azalmayı sağlamasa da özellikle yan etkilerinin azlığı nedeniyle diğer tedavilerin yetmediği durumlarda genellikle kullanılmaktadır (139). Oktreotidin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiş olup oktreotid ağrı tedavisinde nadiren kullanılmaktadır. Antioksidanların kullanıldığı çalışmalarda ise (140, 111) antioksidan kullanımının ağrıyı azalttığı saptanmış ancak bu çalışmalarda ağrının azaldığı hastaların daha çok genç ve idyopatik pankreatitli hastalar olması nedeniyle antioksidanlarla ilgili daha geniş popülasyonlarda çalışma yapılması gerekliliği belirtilmiştir.

Medikal tedaviye yanıt vermeyen hastalarda pankreatit ve ağrı tedavisi için endoskopik yöntemler, sinir bloğu veya nörolizis ve cerrahi uygulanabilir (93).

Pankreatik ve biliyer sfinkterotomi, darlık genişletilmesi, stent yerleştirilmesi, taş çıkarılması ve litotripsi gibi endoskopik yöntemler ile ana pankreatik kanaldaki darlığa yol açan taş, darlık gibi nedenler ortadan kaldırılabilir. Pankreatik kanaldaki dilatasyon düzeyi ile ağrı şiddeti korrelasyon göstermemekle birlikte endoskopik tedavi sonrası kanal çapındaki değişikliklerle de ağrının rahatlaması korrelasyon göstermez. 2002 yılında Rosch ve ark. (142) tarafından endoskopik olarak tedavi edilmiş 1000 kronik pankreatitli hastanın incelendiği retrospektif bir çalışmada hastaların %69' unda ağrı şikayeti geçmiş olup bu oran duktal anomalisi olanlarda daha düşük saptanmıştır. 4.9 yıl sonra bu hastaların %66' sının ağrı şikayetinin olmadığı, %19' unun orta şiddette ağrı tariflediği belirtilmiştir.

Cerrahi tedavi, medikal ve endoskopik tedaviye rağmen devam eden ağrı, kronik pankreatitin lokal komplikasyonları ve malignite varlığından şüphelenilen

durumlarda uygulanır. Cerrahi yöntemlerden en sık kullanılanları lateral pankreatikojunostomi veya modifiye Puestow operasyonudur (93).

Kronik pankreatitte ağrı tedavisinde, endoskopik ve cerrahi yöntemleri karşılaştıran 72 hastanın incelendiği bir çalışmada 1 yıl sonunda ağrı azalmasında gruplar arasında fark gözlenmemiş olup 5 yıl sonunda cerrahi grupta %34, endoskopik tedavi grubunda %15 ağrı şikayetinde tam düzelme devam ediyormuş. Ağrıda parsiyel düzelme, 5 yıl sonunda gruplar arasında farklılık göstermemekle birlikte yaklaşık %50 oranında saptanmıştır (143).

1.1.1.8.2. Egzokrin yetmezliğin tedavisi

Egzokrin yetmezlik kronik pankreatit tanısından genellikle 5-10 yıl sonra gelişen, klinik ve laboratuvar testleriyle saptanabilen malabsorbsiyonun tedavisidir. Egzokrin yetmezlik tedavisinde en önemli unsur, yetmezliğin tanısını koyabilmektir. Çünkü bu hastalar uzun süre tanı alamadıkları için tedavisiz kalmaktadırlar. Pankreatik enzim tedavisine başlamadan önce hastanın beslenme durumu, vücut kitle indeksi ve tam kan sayımı, metabolik panel, internasyonal normalize edilmiş oran (İNR), albumin, prealbumin, karoten, vitamin D gibi laboratuvar tetkikleri değerlendirilmelidir.

Pankreatik yetmezlik tedavisinde pankreatik enzim ekstreleri kullanılmaktadır. Özellikle içerdiği lipaz düzeyine göre tedavi düzenlenmelidir. Çünkü malabsorbsiyona bağlı semptom ve bulgular genellikle lipaz eksikliğine bağlı yağda eriyen vitaminlerin ve yağın sindiriminde bozulma nedeniyle görülmektedir. Malabsorbsiyonun düzelmesi için her öğün ile birlikte 40.000-50.000 USP ünite lipaz verilmelidir. Yeterli cevap sağlanamıyorsa doz 90.000 USP üniteye kadar çıkarılabilir. Pankreatik enzim ile birlikte yağda eriyen vitaminlerin verilmesi de gerekmektedir (93).

1.1.1.8.3. Endokrin yetmezliğin tedavisi

Uzun dönem kronik pankreatit tanısıyla takip edilen veya pankreatik rezeksiyon yapılmış olan hastalarda insülin ve glukagon gibi karşıt düzenleyici hormonların yetersizliğinin olduğu tip 3 diyabetes mellitus görülebilmektedir (144).

Bu nedenle iyatrojenik hipoglisemi, glukagon, pankreatik polipeptit, gastrik inhibitör peptit düşüklüğü görülebilir.

Pankreatite bağıli diyabet tedavisinde pankreatik kanser gelişimi riskinin de azaltan insülin duyarlılaştırıcı metformin kullanılabilmekle birlikte insülin, C-peptit seviyeleri düşük hastalar insülin tedavisinden fayda görmektedirler. Ancak unutulmaması gereken en önemli nokta, hipoglisemiye normal hastalara göre daha yatkın olmalarıdır.

1.1.1.8.4. Antioksidan tedavi

Antioksidan tedavi, pankreas asiner hücrelerinin enzim salınımında önemli basamağı oluşturan egzozitoz için gerekli olan metil ve tiyol bileşiklerinin desteğı ile gerçekleştirilmektedir. Bu bileşikler, elektrofilik ataklardan, CYP ile oluşan reaktif oksijen bileşiklerden veya reaktif ksenobiyotik türlerinden korunmada önemlidir (41.). Yapılmış çalışmalarda (6, 144, 145) antioksidan tedavinin ağrı kontrolünde etkili olduğu ve pankreatit alevlenmelerini azalttığı saptanmış ve antioksidan tedavide vitamin C, selenyum, metiyoninin bulunması gerektiğı belirtilmiştir. Tedavi sırasında plazma ve eritrosit glutasyon seviyelerinin artışı ve verilen anti oksidan maddelerin düzeyleri takip edilmelidir. Antioksidan fazlalığı olması durumunda, reaktif oksijen bileşiklerinin fizyolojik etkileri de engellenebilmektedir.

Kronik pankreatitli hastalarda herhangi bir invaziv girişim yapılmadan anti oksidan destek tedavisine 10 hafta devam edilmelidir. Anti oksidan tedavinin toplam 6 ay devam etmesi önerilmekte olup hastanın şikayetleri ve laboratuvar verilerine göre doz azaltılmalıdır. McCloy ve arkadaşları tarafından 1998 yılında yapılmış bir çalışmada (144) antioksidan tedavi başarısı %90 olarak saptanmış olup tedaviden fayda görmeyenlerin çoğunluğunun tedaviye uyumsuz oldukları veya bu hastalarda kronik pankreatite bağıli komplikasyon geliştiğı belirtilmiştir. Ayrıca antioksidan tedavinin ağrı kontrolünde ve yaşam kalitesini iyileştirmede konvansiyonel yöntemlere göre daha etkili olduğu saptanmıştır (145). Steroidle tedavi edilen otoimmün pankreatit haricindeki pankreatit türlerinin hepsinde antioksidan tedavinin etkisi gösterilmiştir (146). Kronik pankreatit tedavisinde allopurinol ve kurkuminin

etkisi gösterilememiş olup beta karoten içeren antioksidan tedavi preparatlarından ciltteki yan etkileri nedeniyle beta karoten çıkarılmak zorunda kalınmıştır (41, 144).

1.1.2. Whey Proteini

“Peynir altı suyu” adı da verilen whey proteininin günümüzde tüketilen sütlerdeki proteinin yaklaşık %20’ sini oluşturduğu saptanmıştır. Sütteki proteinlerin %80’ ini oluşturan kazeine göre whey proteininin daha hızlı emilmesi nedeniyle vücuttaki fizyolojik sistemler üzerine daha etkili olduğu belirtilmiştir. Whey proteinindeki moleküler yapılar, sindirim sistemindeki enzimler tarafından kolayca hidrolize olarak vücudun kullanabileceği basit yapılara dönüşürler. İnce barsakta whey proteininin geçişi yavaşlar ve absorpsiyon için daha fazla zaman elde edilmiş olur (146).

Whey proteini, dondurma yapımında, bebek mamalarında, bazı yiyeceklerde yağ yerine kullanılmakla birlikte içeriğindeki yüksek dallı zincirli aminoasitler nedeniyle sporcular ve özellikle vücut geliştirmek isteyenler tarafından kullanılmaktadır. Diğer yapısal proteinlerle kıyaslandığında whey proteinlerinde daha fazla miktarda dallı zincirli aminoasitleri bulunmaktadır. Whey proteinlerindeki bu aminoasitlerin hidrolizasyonu daha kolaydır ve dakikalar içerisinde plazma seviyelerinde yükselme saptanır (147).

Aydın (148) tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışmada, whey proteinlerindeki adroin, nesfatin-1, apelin-12, des-açıl ghrelin ve salusin seviyelerinin diğer süt proteinlerinden fazla olduğu salusin alfa ve acile ghrelin seviyeleri arasında fark bulunmadığı saptanmıştır.

Whey proteini içeriğindeki proteinlerin immün ilişkili birçok fonksiyonları bulunmaktadır (Tablo 2):

Tablo 2. Wheyin içerdığı proteinlerin immün fonksiyon mekanizmaları (147.)

PROTEİN	FONKSİYON
β -laktoglobulin	Retinolü bağlar ve emilimini uyarır. uzun zincirli yağ asitlerine bağlanma
α -laktalbumin	Tümör hücrelerini öldürür. Üst solunum yollarında bakterisidal etkili ve gastrik mukoza koruyucu etki
Laktoferrin	Demir emilimini düzenler. Çeşitli bakterilerin çoğalmasını engeller. Nötrofiller tarafından yıkılan bakterilerden salınan demiri bağlayarak oksidatif reaksiyonları engeller. immün sistem hücrelerinin cevabını düzenler
Serum Albümin	Yağ asitlerini ve safra pigmentlerini bağlar
İmmünglobulin G	Bakterisidal etkiye sahip olup ayrıca bakterilerin hücreye tutunmasını engeller. Toksin ve virüsleri bloke eder.
İmmünglobulin A	Bakterilerin mukozal yüzeylere tutunmasını engeller. Bakteri ve virüslerden salınan toksinleri bloke eder.
İmmünglobulin M	İgG benzeri etkiye sahiptir ancak biyoaktivitesi daha yüksektir.
Laktoperoksidaz	Siyanik asit ve hidrojen peroksit ile güçlü bakterisidal etki oluşturur
Lizozim	Hücre duvarını zedeleyerek bakteriyolitik etki

1.1.2.1. Protein İçeriği

Whey proteini β -laktoglobulin, α -laktalbumin, inek serum albümin ve glikomakropeptit gibi birçok proteini içermektedir. Bu proteinler, lösin, izolösin ve valin gibi dallı zincirli aminoasitlerin tümünü içerirler. Bu aminoasitler, doku büyümesi ve tamirinde gerekli olup özellikle lösin protein sentezindeki translasyon basamağı için önemlidir (149). Whey proteini, glutatyon üretimi için gerekli olan sistein açısından da zengindir. Glutatyon, hemen her hücrede bulunan ve hücrelere dışarıdan alınamadığından hücre içinde glisin, glutamat ve sisteinden oluşturulan bir moleküldür. Glutatyon, hücreleri serbest radikallerden koruyan esas antioksidanlardan olup detoksifiye edici ajan olarak önem arz etmektedir.

1.1.2.1.1. β -Laktoglobulin

β -Laktoglobulin esas whey proteinlerindendir. Linoleik asit taşıyıcısı olarak görev yapan β -laktoglobulinin linoleik asitin biyoetkinliğini değiştirdiği saptanmıştır. Diğer yandan inek sütündeki β -laktoglobulinin gastrik ve duodenal sindirimi zorlaştırdığı ortaya konmuştur (150). Bu özelliği nedeniyle mide asiditesinden etkilenen ilaçların emilimi için iyi bir yardımcı olarak kullanılabilmesine olanak sağlayabilmektedir (151).

1.1.2.1.2. Laktoferrin

Laktoferrin, antimikrobiyal ve antioksidan etkileri bulunan hem olmayan demir bağlayıcı bir glikoproteindir (152.). Ayrıca aktive lenfositlerden salgılanan interferon seviyesinin laktoferrin tarafından baskılandığı saptanmıştır (153). Ayrıca laktoferrinin İL-8 üretimini arttırarak nötrofillerin fagositoz aktivitesini desteklediği (154) ve immün hücre üretimini uyardığı gösterilmiştir (155). Bu etkilerinin yanında laktoferrinin hayvan modellerinde pro-Th1 sitokinlerini inhibe ettiği ve düzenleyici bir sitokin olan İL-10 seviyesini arttırdığı gösterilmiştir (10).

1.1.2.1.3. İmmünglobulinler

İmmünglobulinler (İg), inek sütünün elde edilen whey proteinlerinin %10-15' ini oluşturmaktadır ve bunların içinde 0.6-0.9 mg/ml ile İgG en yüksek konsantrasyondadır (156). İn vitro olarak yapılmış bir çalışmada 0.3 mg/ml inek sütü İgG konsantrasyonunun, insan İgG, İgM ve İgA sentezini %98 oranında azalttığı saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında inek sütünün insan immün sistemi üzerinde düzenleyici rolü olduğu düşünölmektedir (157).

1.1.2.1.4. Laktoperoksidaz

Laktoperoksidaz, wheyin içinde en yüksek oranda bulunan enzimdir. Bu etkiyi tiyosiyanat peroksidasyonunu katalize ederek hidrojen peroksit miktarını düşürerek gerçekleştirir (158).

1.1.2.2. Whey Proteini Etki Mekanizması

Wheyin insan vücudunda çok çeşitli fonksiyonları mevcuttur.

1.1.2.2.1. Antioksidan etki

Wheyin antioksidan ve detoksifiye edici etkisi glutatyon sentezine yaptığı katkı üzerinden olmaktadır. Anti oksidan tiyol grubu içeren sisteinin glisin ve glutamat birleşmesi sonucu glutatyon oluşmaktadır. Glutatyon ve okside formu GSSH arasındaki redoks siklusu sayesinde RNA, DNA ve proteinlerin üretimini destekleyen glutatyon, esas endojen antioksidandır (159). Glutatyon (GSH) antioksidan etkisini glutatyon peroksidaz (GSHPx) ile gerçekleştirilen enzimatik reaksiyon ile okside glutatyona (GSSG) dönüşerek oluşturur.



Ayrıca glutatyon, hücre içindeki tekli oksijen ve hidroksil radikalleri ile enzimatik olmayan reaksiyonlarla etkileşebilmektedir (160).

1.1.2.2.2. Anti-inflamatuvar etki

Whey proteininin lenfosit stimülasyonu, fagositozu arttırma, peyer plaklarında immünglobulin A sekresyonun arttırma gibi immün düzenleyici özelliklerinin olduğu gözlenmiştir. Bu etkilerini esas olarak içeriğindeki laktoferrin nedeniyle gerçekleştirdiği saptanmış olan whey proteininin immünglobülinler, laktoperoksidaz gibi proteinlerle de immün düzenleyici veya anti inflamatuvar etkilerinin olduğu gösterilmiştir (161). Ayrıca β -laktoglobulin, inek serum albumini ve α -laktalbumin gibi whey proteinlerinin de splenosit proliferasyonunu ve makrofajlardan İL-1 üretimini arttırdıkları saptanmıştır (162).

Beaulieu (161) tarafından yapılan bir çalışmada, whey proteini ve laktik asit bakterisinden (laktobasillus) elde edilen bir jelin, atopik kontakt dermatitte lokal olarak uygulandığında steroidlerle karşılaştırılabilir düzeyde iyileşme sağladığı bildirilmiştir.

1.1.2.2.3. Lipid ve Glukoz Metabolizması Üzerine Etkileri

Aşırı kilolu ve obezlerde uzun dönem (12 hafta) whey protein alımının açlık plazma triaçilgliserol düzeyinin azaldığı saptanmıştır (163). Bu çalışmada wheyin

lipoprotein lipaz stimölasyonu ile şilomikron üretimini azaltması ve yıkımını hızlandırmasının bu etkiye neden olduğu ortaya konmuştur. Bununla birlikte whey proteini alımının tip 2 diyabetli hastalarda yüksek yağ içerikli diyet sonrasında trigliserit, serbest yağ asitleri ve şilomikrondan zengin lipoprotein seviyelerinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (163).

Pal ve ark. (164) tarafından yapılan çalışmada 12 haftalık whey proteini alımı sonrasında açlık plazma insülin seviyesinde %11' lik azalma olduğu belirtilmiştir. Mc Gregor ve ark. (153) tarafından yapılan çalışmada whey proteinin postprandiyal kan glukozuna akut etkisinin tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan sulfonilüre ve diğerk insülin sekretogogları ile karşılaştırılabilecek düzeyde olduğu belirtilmiştir.

Whey proteini, biyoaktif peptit ve aminoasitlerinin gastrointestinal sindirimi sırasında gıda alımını azaltan ve iştahı baskılayan kolesistokinin, peptit YY, glukoz bağımlı insülinotropik polipeptit (GIP), glukagon benzeri peptit (GLP-1) ve insülin gibi birkaç hormonun salınımını arttırmaktadır. Olası mekanizmalardan biri de biyoaktif peptitlerin proksimal barsaktan salınan dipeptidil peptidaz 4 enziminin endojen inhibitörlerinin arttırmasıdır. Bu şekilde GLP-1 ve GIP gibi insülinotropik inkretinlerin yıkımı engellenir. Diğerk bir mekanizma da lösin gibi mTOR yolağını ve protein sentezini aktive eden dallı zincirli aminoasitlerin tokluk hissi, termogeneizde artış ve kan glukozunda düşmeye neden olmasıdır (165).

1.1.2.2.4. Kas metabolizması üzerine etkileri

Whey proteini, kas sentezi üzerine etkisi nedeniyle özellikle atletlerde ve spor yapanlarda önemli bir destek ürünü haline gelmiştir. Yapılmış çalışmalar, egzersiz öncesi ve sonrası protein veya esansiyel aminoasit alımının kas protein sentezini arttırabildiğini ve kaslarda hipertrofiye neden olduğunu göstermiştir. Kas direnci için yapılan egzersizlerin öncesinde whey proteini desteğinin kas protein sentezini arttırdığı ve egzersiz sonrasında egzersize bağılı yaralanmayı azalttığı saptanmıştır (166, 167).

1.1.2.2.5. Kanserk

Whey proteinin anti-kanserk özelliklerini araştıran hayvan çalışmalarında bu etkinin glutatyon ve laktoferrinin antioksidan, detoksifiye edici ve immün

düzenleyici etkilerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (149). Laktoferrin varlığında kolon kanserli sıçanlarda tümör büyümesinin ve primer tümör metastazının baskılandığı saptanmıştır (168, 169). İn vitro olarak yapılmış bir çalışmada inek serum albumininin meme kanseri gelişimindeki önemli basamakları inhibe ettiği saptanmış olup, bu etkinin mekanizması anlaşılamamıştır (170).

1.1.2.2.6. Hepatit ve karaciğer toksisitesi

Hepatit B virüslü 8 hastaya 12 gr/gün whey proteini verildiğinde hastaları karaciğer fonksiyon testlerinde düzelme, serum lipid peroksidaz seviyelerinde azalma, interlokin 2 ve doğal öldürücü hücrelerinde artış olduğu saptanmıştır (171).

Hayvan çalışmalarında whey proteininin hepatoprotektif etkisi tespit edilmiş olup Kume ve ark. (172) tarafından yapılan bir çalışmada, D galaktozamin ile hepatotoksiste oluşturulan sıçanlara protein kaynağı olarak kazein ve whey proteininin kullanıldığı diyetler verilmiş. Whey proteini alan grupta AST, ALT, LDH, bilirubin ve fibrozis belirteçlerinden olan hyaluronik asit seviyelerinde azalma olduğu saptanmıştır. Ayrıca histopatolojik olarak portal fibrozis, safra yolları proliferasyonu ve perivenüler sklerozda azalma saptanmıştır.

2014 yılında Jobara ve ark. (173) tarafından yapılan bir çalışmada, protein kaynağı olarak whey proteini içeren diyet verilmiş sıçanlarda makroskobik ve mikroskobik olarak fibrozisin düzeldiği, reaktif oksijen radikallerinin azaldığı ve karaciğer glutatyon seviyesinin yükseldiği saptanmıştır.

1.1.2.2.7. Kardiyovasküler hastalıklar

Kawase ve ark. (174) tarafından yapılan 8 haftalık bir çalışmada fermente süt ve whey proteini verilen kişilerde HDL seviyelerinin daha düşük, trigliserit düzeylerinin daha yüksek olduğu saptanmış olup sistolik kan basınçlarının daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca glukoz ve lipid metabolizması üzerine obeziteyi önleyici ve kan şekeri düzenleyici etkilerinden dolayı kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde ve ilerlemesinde fayda sağlamaktadır.

Whey proteininin hipertansiyon üzerine etkilerinin ACE (anjiyotensin dönüştürücü enzim) üzerinden olduğu düşünülmektedir. Çünkü araştırmacıların çoğu, yiyeceklerdeki proteinlerin hidrolizinden oluşan belli biyoaktif peptitlerin ACE

inhibisyonu yapabileceği düşüncesindedir (175). Whey proteinin potansiyel ACE inhibisyonu etkisi ile ilgili çalışmalar, β -laktoglobulinin sindirim enzimlerine dirençli olması nedeniyle sınırlı sayıda.

1.1.2.2.8. Osteoporoz

Whey proteininde bulunan laktoferrinin osteoblast aktivitesine yol açtığı belirtilmiştir. Bu etkiyi özellikle laktoferrini endositozla osteoblast içine alan düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü ilişkili protein (LRP1) ve osteoblast aktivitesini uyaran p42/44 MAPK yollarıyla gerçekleştirir (176). Kemik mineral yoğunluğunda kalsiyum alımının önemi anlaşılmıştır ve kalsiyumun optimal kemik kitlesi için en önemli beslenme ürünü olduğu saptanmıştır. Günlük 40 mg temel süt proteininin kemik mineral yoğunluğunda anlamlı derecede artış meydana getirdiği ve kemik yıkımını azalttığı saptanmıştır (177).

1.1.2.2.9. Stres uyumu

α -Laktalbumin ile zenginleştirilmiş wheyin kognitif performansı ve strese yatkın kişilerde duygu durumu iyilştirdiği gösterilmiştir (178, 179). α -Laktalbumin kronik stres durumlarında düştüğü saptanan serotonin sentezi için gerekli olan triptofandan zengindir. Moura ve ark. (180) tarafından whey proteini alımının, strese karşı hücrel toleransa yardımcı olan HSP 70 ekspresyonuna etkisini değerlendiren çalışmada, whey proteini verilen grupta HSP 70 ekspresyonunun soleus, gastrokinemius kasları ve akciğerlerde, kazein verilen gruba göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.

1.1.2.2.10. Gastrointestinal destek

Whey proteininin glutatyon uyarıcı özeliği ile mukozal koruyucu etkisi hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Glutatyon uyarıcı etkisi ile birlikte içeriğindeki glutamat aminosidinin intestinal mukozal hücrelerin kullandığı esas enerji kaynağı olan glutamine dönüşmesi de mukozal korunmada önemlidir (181).

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu araştırma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları tarafından Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra Aralık 2014 - Şubat 2015 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışma için Fırat Üniversitesi bilimsel araştırma projeleri biriminden TF.14.46 proje numarasıyla onay alınmış ve gerekli maddi destek sağlanmıştır.

2.1. Deney hayvanları

Çalışmada 163 - 223 gr ağırlığında 49 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanılmıştır. Ratlar 21 ± 2 °C oda ısısında 12 saat ışık (7: 00-19: 00) ve 12 saat karanlıkta (19: 00-7: 00) tutulup özel olarak yaptırılan kafeslerde beslenmiştir. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verilmiştir.

Bütün gruplardaki hayvanlar deneye başlanmadan önce tartılmış olup haftalık tartımları yapılmıştır. Gruplarda bulunan bütün ratlar aynı ortamda gözetim altında tutulmuş olup hayvanlara add-libitum su verilip, yiyecek alımları sağlanmış ve hayvanların günlük olarak altları temizlenerek bakımları yapılmıştır.

2.2. Çalışma grupları

Grup I (n=7) (kontrol grubu): Standart diyet verildi.

Grup II (n=7) (whey-14): Haftada 3 gün 2.39 gr/kg whey proteini izolatu orogastrik sonda ile verildi. Çalışmanın 14. Gününde sakrifiye yapıldı.

Çalışmanın 3. Gününde orogastrik lavaj sırasında trakeal aspirasyon gelişmesi nedeniyle 2. grupta bir rat öldü

Grup III (n=7) (KP-14 grubu): 8 mg/kg Dibutiltin diklorit intravenöz olarak 1 kez uygulandı. Çalışmanın 14. gününde sakrifiye yapıldı.

Grup IV (n=7) (KP+whey-14): İntravenöz tek doz 8 mg/kg dibutiltin diklorit ile kronik pankreatit oluşturulan gruba haftada 3 gün 2.39 gr/kg whey proteini izolatu orogastrik sonda ile verildi. Çalışmanın 14.gününde sakrifiye yapıldı.

Çalışmanın 3. gününde orogastrik lavaj sırasında trakeal aspirasyon gelişmesi nedeniyle 4. grupta bir rat öldü.

Grup V (n=7) (whey-28): haftada 3 gün 2.39 gr/kg whey proteini izolatu orogastrik sonda ile verildi. Çalışmanın 28. gününde sakrifasyon yapıldı.

Grup VI (n=7) (KP-28): 8 mg/kg Dibutiltin diklorit intravenöz olarak 1 kez uygulandı. 28.günde sakrifasyon yapıldı.

Grup VII (n=7) (KP+whey 28): İntravenöz tek doz 8 mg/kg dibutiltin diklorit ile kronik pankreatit oluşturulan gruba haftada 3 gün 2.39 gr/kg whey proteini izolatu orogastrik sonda ile verildi. Çalışmanın 28.gününde sakrifasyon yapıldı.

Çalışmanın 7. Gününde orogastrik lavaj sırasında trakeal aspirasyon gelişmesi nedeniyle 7. gruptaki bir rat öldü.

Çalışmamızın deneysel planı Tablo 3' te belirtilmiştir.

Tablo 3. Deneysel çalışma planı

Gruplar	1.gün	1-14 gün	14.gün	14-28 gün	28.gün
I (Kontrol) (n=7)	-	-	-	-	Sakrifasyon
II. (W14) (n=6)	-	Whey	Sakrifasyon	-	-
III (P14) (n=7)	DBTC	-	Sakrifasyon	-	-
IV (WP14) (n=6)	DBTC	Whey	Sakrifasyon	-	-
V (W28) (n=7)	-	Whey	-	Whey	Sakrifasyon
VI (P28) (n=7)	DBTC	-	-	-	Sakrifasyon
VII (WP28) (n=6)	DBTC	Whey	-	Whey	Sakrifasyon

2.3. Pankreatit indüksiyonu

200 mg % 96' lık dibutiltin diklorit (Sigma-Aldrich) 10 cc % 96' lık etanolde çözüldükten sonra karışıma 15 cc Gliserol (Sigma-Aldrich) eklenerek 8 mg/ml' lik dibutiltin diklorit çözeltisi elde edildi. Bir gece önceden aç bırakılmış pankreatit indüksiyonu oluşturulacak ratların kuyruk venlerine 26 G kalınlığındaki intravenöz kateter yerleştirilerek 8 mg/kg dozunda dibutiltin diklorit uygulandı (182).

2.4. Whey proteini

GNC firmasının ürettiği %100 whey proteini isimli whey proteini izolatının sporculara beslenme desteği olarak önerilen günaşırı 33.3 gramlık dozu, FDA' nın (food and drug association) insan-hayvan doz denkleştirme tablosuna göre

hesaplanarak ratlar için 2.39 gr/kg whey proteini, gün aşırı orogastrik gavaj ile verildi. 2.39 gr/kg whey proteini her rat için ortalama 2 ml su ile çözündürüldü.

2.5. Sakrifasyon

Deney protokolü tamamlandıktan sonra gruptaki ratlar sakrifasyon zamanında ketamin (75mg/kg) + ksilazine (5mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Abdominal boşluğu açılan ratların pankreas dokuları çıkarılarak uygun fiksatiflerle tespit edilip ardından histopatolojik, immünohistokimyasal ve immünolojik incelemeler için pankreas doku örnekleri ve biyokimyasal incelemeler için kan örnekleri alındı.

2.6. Laboratuvar incelemeleri

2.6.1. Biyokimyasal analiz

Ratlardan elde edilen serum örneklerinden, Siemens marka Adria 1800 biyokimya otoanalizörü ile glukoz, AST, ALT, ALP, Amilaz, Lipaz, Üre, Kreatinin analizleri yapıldı.

2.6.2. MDA

Ratlardan alınan serum örneklerinin üzerine 300 µl 0.5 M HClO₄ eklendi. Santrifüj edilen karışımdan elde edilen süpernatant dikkatlice viallere alınarak serumların ekstraksiyon işlemi tamamlandı. MDA (1,1,3,3-tetraethoksi-propan, Sigma-Aldrich, Almanya) standardı, kalibrasyonda kullanılmak üzere hazırlandı. Bu işlem için, tetraethoksi-propandan 10 µl hacimde alınarak 10 ml'lik kapaklı bir cam tüpe alındı. Hacim 0.1 M hidroklorik asit (HCl, %37, Merck, Almanya) ile 10 ml hacme tamamlandı. Benmaride (Memmert, Almanya) kapak kapalı olarak 100 °C'de 5 dk uygulandıktan sonra ultra saf su ile 100 ml' ye tamamlandı. Analizler, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid chromatography, HPLC) cihazında (Shimadzu, Japonya) LC Solution (LabSolution LCsolution Release 1.21) paket programı kullanılarak yapıldı (183).

2.6.3. RT-PCR

Bu çalışmada, hedef gen ekspresyonlarının kontrol grubuna göre durumları incelendi. Uygun primer setleri kullanıldı ve farklı hedef bölgeleri standartlar kullanılarak oluşturulan doğruya göre kıyaslandı ve artış/azalış durumları raporlandı.

Numune olarak deney hayvanlarından alınan pankreas doku örneklerinin izolasyonu için BIONEER Marka ExiPrepTMPlus Tissue Total RNA Kiti kullanılarak gerekli RNA izolasyonu sağlandı. RT-Miks kullanılarak RNA' dan cDNA elde edildi ve Syber Green Master Miks ile çoğaltılarak NFκB, İL-6, TGF-β ve TNF-α analizleri yapıldı. 32 değeri normal değer olarak kullanıldı (184).

2.6.4. Histopatolojik incelemeler

2.6.4.1. Hematoksilen eosin

Çalışma sonunda ratlardan alınan pankreas dokuları, histolojik inceleme için hemen %10'luk nötral tamponlu formalin solüsyonu ile fiksle edildi. Formaldehit ile fiske edilmiş Daha sonra yavaş yavaş dehidrate edilip parafine gömüldü. Parafin bloklar standart işlemlere uygun olarak 5 µM' lik kesitler halinde kesilerek hematoksilen- eosin boyası ile boyandı (185). Her bir böbrek lamı için minimum 10 alan incelendi. İnflamasyon, atrofi, fibrozis düzeyleri tedavi gruplarından haberdar olmayan bir patolog tarafından semikantitatif olarak değerlendirildi. Değişimin şiddetini belirlemede kullanılan derecelendirme sistemi: (-): yok, (+): hafif, (++) : orta, (+++) : şiddetli olarak belirlendi.

2.6.4.2. Ki-67

İmmun boyama için parafin bloklardan elde edilen 5 mikrometre kalınlığındaki kesitler Ki-67 antikoru (256498746-2014) ile Ventana marka immunohistokimyasal boyama cihazında boyanarak BX-50 Olympus marka ışık mikroskopunda değerlendirildi.

2.7. İstatistiksel yöntemler

Veriler, Microsoft Office Excel 2010 programına girildi. Gruplar arası farklar Kruskal Wallis, ikili karşılaştırmalar Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Ayrıca Gruplar arası farklılığı ortaya koymak için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) post hoc tukey testi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık p<0.05 olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Dibutiltin diklorit ile 28 günde kronik pankreatit oluşturularak whey proteinin etkisinin incelendiği çalışmamızda ayrıca pankreatit gelişim sürecindeki 14. günde de whey proteinin etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen kilo değişimi, biyokimyasal, serum MDA düzeyleri, RT-PCR incelemeleri, histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemelerden elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir:

3.1. Ağırlık değişimi

Çalışmada 163-223 gr arası sprague dawley cinsi ratlar kullanılmış olup çalışma başlangıcında gruplara homojen olarak dağıtılmıştır. Çalışmaya alınan ratların ortalama ağırlıkları 186 gr olup başlangıç ağırlığı açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4).

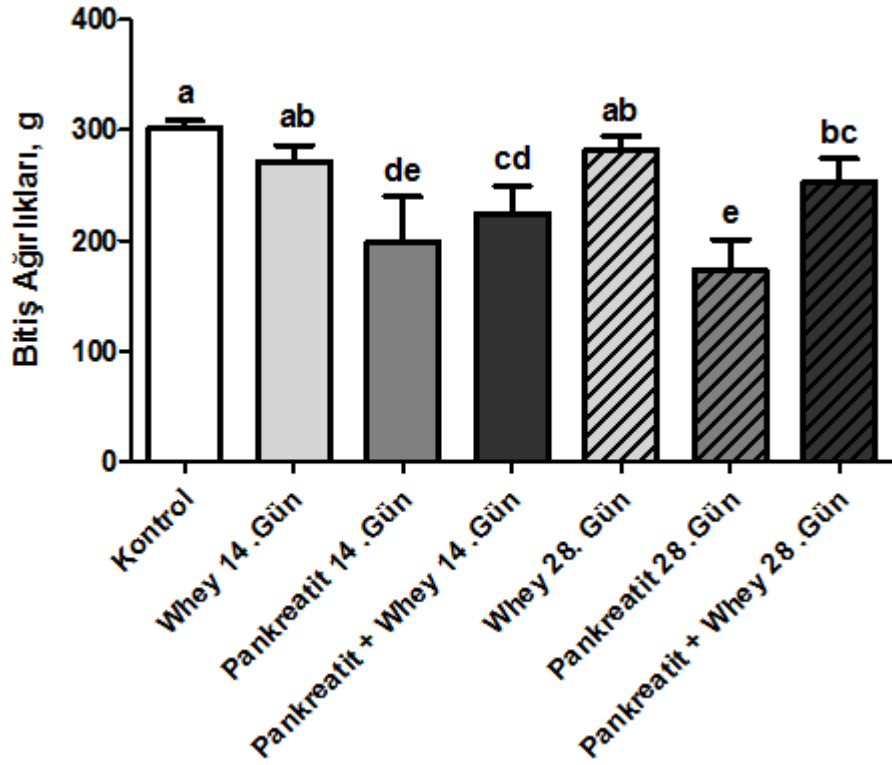
Çalışma sonunda ratların ağırlıkları karşılaştırıldığında, diğer gruplarda hayvan ağırlıklarında artış gözlenirken 28. gün pankreatit grubunda çalışma sonunda (173 ± 28 gr) başlangıç ağırlığına göre ($186,57 \pm 16$ gr) ortalama ağırlıkta % 7' lik bir azalma olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubu ($302,14 \pm 6$ gr) ile karşılaştırıldığında 28. gün pankreatit grubunda çalışma sonu ortalama ağırlıkta % 42' lik bir azalma olduğu saptanmıştır. Bu kayıp, istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Kontrol grubu ile sadece whey proteini verilen gruplar arasında çalışma bitimindeki ağırlıklar açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p<0.05$) (Şekil 3). Sadece whey verilen grupların çalışma bitimindeki ortalama ağırlıkları: 14. gün $271,67 \pm 15$ gr ve 28. gün $281,33 \pm 14$ gramdır. 14. gün pankreatit grubunda ratlarda ağırlık artışı saptanmış olup bu ağırlık değişiminin, 28.gün pankreatit grubu ile istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). 28. gün pankreatit grubuyla 28. gün tedavi grubu (pankreatit+ whey) ($252,86 \pm 21$ gr) karşılaştırıldığında çalışma sonu ağırlıkları açısından tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı olarak ağırlık artışı saptanmıştır ($p<0.05$). 28. gün ile benzer olarak, 14. gün pankreatit ($199,14 \pm 40$ gr) ile 14. gün tedavi grubu (pankreatit+ whey) ($224,33 \pm 25$ gr) arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Pankreatit 14 grubunun çalışma bitimindeki ortalama ağırlığı 14. gün whey grubuna göre daha düşük olup bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Tablo 4. DBTC ile pankreatit oluşturulan ratlarda whey proteinin hayvan ağırlıkları üzerine etkisi

Parametreler	Gruplar							--P--
	Kontrol	Whey 14	Pankreatit 14	Pankreatit + Whey 14	Whey 28	Pankreatit 28	Pankreatit + Whey 28	
Başlangıç Ağırlığı, gr	185,71±10,67	185,00±8,72	184,00±8,98	188,57±12,84	187,14±7,49	186,57±15,91	185,14±13,94	0,994
Bitiş Ağırlığı, gr	302,14±6,15 ^a	271,67±14,65 ^{ab}	199,14±40,16 ^c	224,33±24,70 ^{cd}	281,33±13,50 ^{ab}	173,00±28,27 ^{de}	252,86±20,80 ^{bc}	0,0001

a-e: Aynı satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p < 0.05$). Gruplar arası farklar Kruskal Wallis, ikili karşılaştırmalar Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.



Şekil 3. Çalışmaya alınan ratların çalışma bitimindeki ağırlıklarının karşılaştırılması.

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

3.2. Biyokimyasal parametreler

Çalışmaya alınan ratların serumlarından DBTC ile oluşturulan kronik pankreatit modelinde pankreas, karaciğer, böbrek hasarını gösterebilecek glukoz, AST, ALT, ALP, amilaz, lipaz, üre, kreatinin düzeyleri çalışıldı (Tablo 5).

Tablo 5. DBTC ile pankreatit oluşturulan ratlarda whey proteininin biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

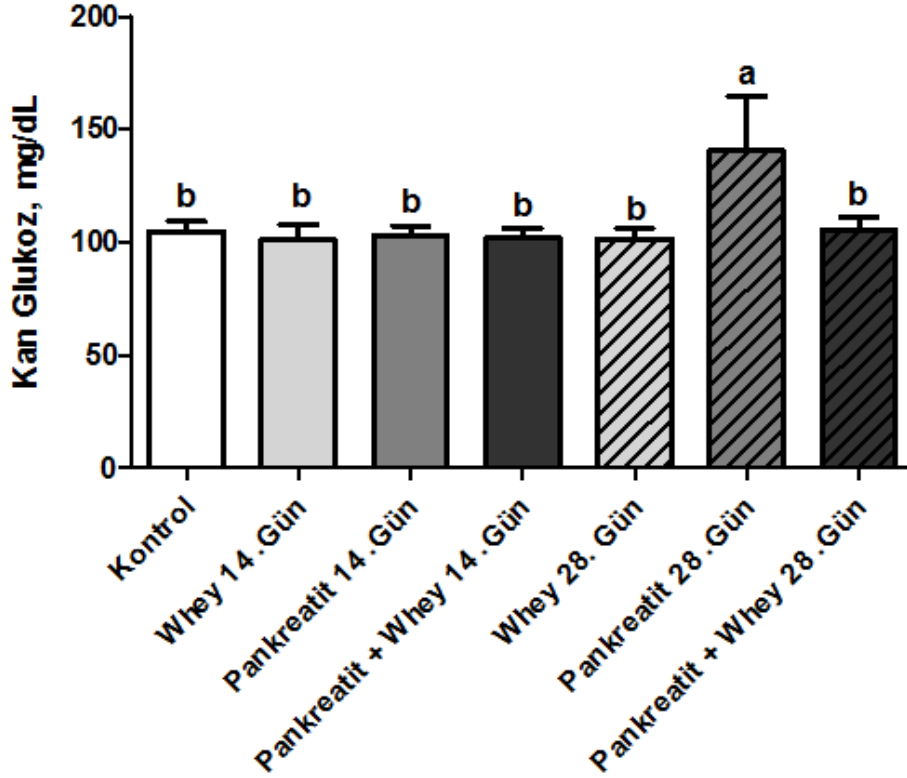
Parametreler	Gruplar							--P--
	Kontrol	Whey 14	Pankreatit 14	Pankreatit + Whey 14	Whey 28	Pankreatit 28	Pankreatit + Whey 28	
Glukoz, mg/dL	104,71±4,64 ^b	101,14±6,79 ^b	103,00±4,40 ^b	101,67±4,55 ^b	101,50±4,68 ^b	140,57±24,21 ^a	105,83±5,00 ^b	0,006
AST, U/L	173,86±12,86 ^c	198,14±6,47 ^c	258,43±49,36 ^{bc}	199,67±7,87 ^c	192,00±9,78 ^c	514,00±156,31 ^a	349,83±41,15 ^b	0,0001
ALT, U/L	76,86±6,34 ^b	78,57±4,20 ^b	87,86±4,14 ^b	81,33±2,80 ^b	80,17±3,06 ^b	228,00±67,57 ^a	183,00±4,82 ^a	0,0001
ALP, U/L	388,43±22,55 ^c	380,14±14,08 ^c	450,86±42,49 ^{bc}	417,33±12,99 ^{bc}	389,17±11,50 ^c	649,71±126,18 ^a	491,67±22,39 ^b	0,0001
Amilaz, U/L	1781,00±61,90 ^c	1776,71±63,44 ^c	3364,57±693,66 ^b	2657,50±84,63 ^{bc}	1807,50±71,67 ^c	4493,57±1182,25 ^a	2408,17±37,28 ^c	0,0001
Lipaz, U/L	12,43±0,79 ^b	12,14±0,69 ^b	25,14±7,15 ^b	12,67±1,21 ^b	12,17±0,75 ^b	58,43±20,70 ^a	14,33±1,03 ^b	0,0001
Ure, mg/dl	62,71±5,96	66,71±4,54	62,71±5,96	63,00±4,00	60,17±5,85	62,43±4,83	63,33±3,61	0,434
Kreatinin, mg/dl	0,25±0,04	0,23±0,03	0,21±0,07	0,24±0,03	0,25±0,04	0,26±0,03	0,27±0,06	0,462

a-e: Aynı satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p < 0.05$). Gruplar arası farklar Kruskal Wallis, ikili karşılaştırmalar Mann

Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanine aminotransferaz; ALP:

Alkalen Fosfataz

Çalışmaya alınan ratların çalışma sonunda bakılan glukoz düzeyleri karşılaştırıldığında (Şekil 4) diğer gruplarda fark izlenmezken 28. gün pankreatit grubunda ($140,57 \pm 24$ mg/dl) kan glukoz düzeyinde kontrol grubuna ($104,71 \pm 5$ mg/dl) göre %33' lük artış saptanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



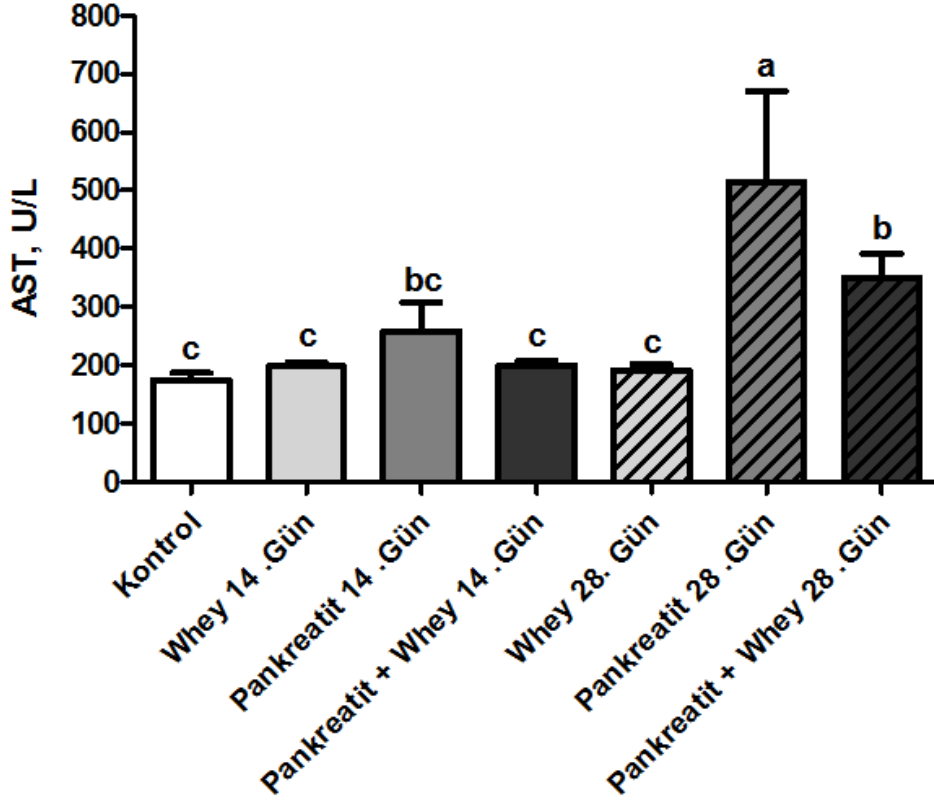
Şekil 4. Çalışmaya alınan grupların kan glukoz düzeylerinin karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

28. gün tedavi (pankreatit+whey) grubunda ($105,83 \pm 5$ mg/dl) 28. gün pankreatit grubuna göre kan glukoz düzeyi %25 oranında daha düşük bulunmuştur ve bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). Ayrıca 28. gün tedavi grubu glukoz düzeyleri kontrol grubuyla benzerdir. Sadece whey proteini verilen gruplarda kan glukozu, kontrol grubuna göre yaklaşık %3 daha düşük saptanmıştır ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$). 28. gün pankreatit grubunda 14. gün pankreatit grubuna göre daha yüksek kan şekeri düzeyleri saptanmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Ortalama AST düzeyleri açısından gruplar karşılaştırıldığında (Şekil 5), 28. gün pankreatit ($514,00 \pm 156$ U/L) değerlerinde kontrol grubuna ($173,86 \pm 13$ U/L)

göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptanmıştır ($p<0.05$). Kontrol, 14. gün whey, 14. gün tedavi (pankreatit+whey) ve 28. gün whey gruplarıyla AST düzeyleri benzer olarak saptanmış olup tespit edilen değerler sırasıyla: $173,86\pm13$ U/L, $198,14\pm6$ U/L, $258,43\pm5$ U/L ve $192,00\pm9$ U/L’ dir.

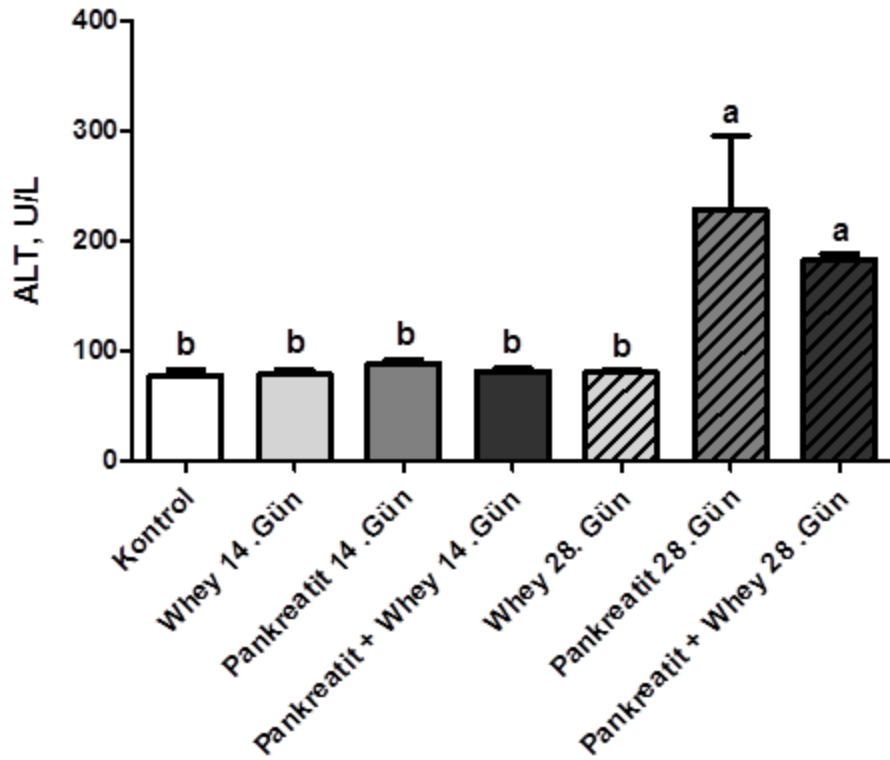


Şekil 5. Çalışmaya alınan grupların AST düzeylerine göre karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

14. gün pankreatit grubunda AST düzeylerinde ($258,43\pm5$ U/L) yükseklik saptanmış olup bu yükseklik, kontrol, 14. gün whey, 14. gün tedavi gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). 28. gün tedavi (pankreatit+whey) ($349,83\pm4$ U/L) grubunda 28. gün pankreatit ($514,00\pm156$ U/L) grubuyla karşılaştırıldığında AST değerinde %32’ lik bir azalma saptanmıştır. Bu fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Ortalama ALT değerleri açısından gruplar karşılaştırıldığında (Şekil 6), 28. Gün pankreatit grubunda ($228,00\pm67$ U/L) kontrol grubuna ($76,86\pm6$ U/L) göre yaklaşık 2 kat artış saptanmıştır. Bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

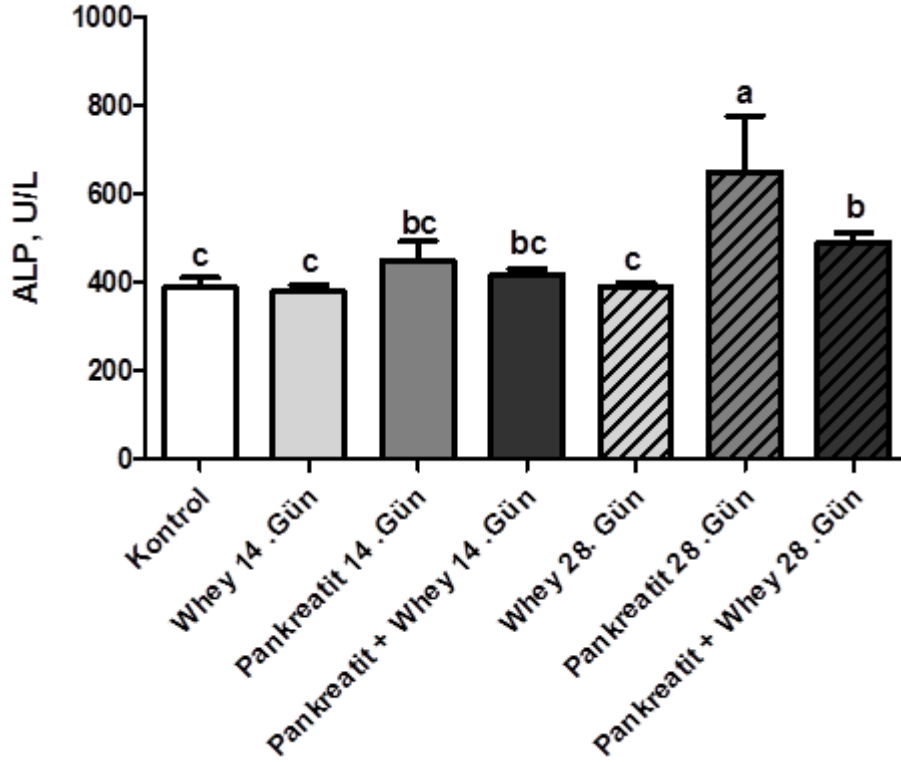


Şekil 6. Çalışmaya alınan grupların ALT değerleri açısından karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

28. gün pankreatit grubu ($228,00 \pm 67$ U/L) ile 28. gün tedavi (whey+ pankreatit) ($183,00 \pm 4$ U/L) grubu karşılaştırıldığında %20' lik bir düşüklük saptanmış olup bu düşüklük, istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Sadece whey verilen grupların ALT değerlerinin kontrol grubu ile benzer olduğu saptanmıştır ($p > 0.05$). Bu değerler: 14. gün $78,57 \pm 4$ U/L ve 28. gün $80,17 \pm 3$ U/L' dir. 14. gün pankreatit grubunda ($87,86 \pm 4$ U/L) kontrol grubuna göre %14' lük bir artış saptanmıştır ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$).

Ortalama ALP düzeyleri açısından gruplar incelendiğinde (Şekil 7), 28. gün pankreatit grubunda ($649,71 \pm 126$ U/L) kontrol grubuna ($388,43 \pm 22$ U/L) göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptanmıştır ($p < 0.05$). 28. gün tedavi (pankreatit+whey) grubunda ($491,67 \pm 22$ U/L) 28. gün pankreatit grubuna göre ALP değerinde %24' lük bir azalma saptanmış olup bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

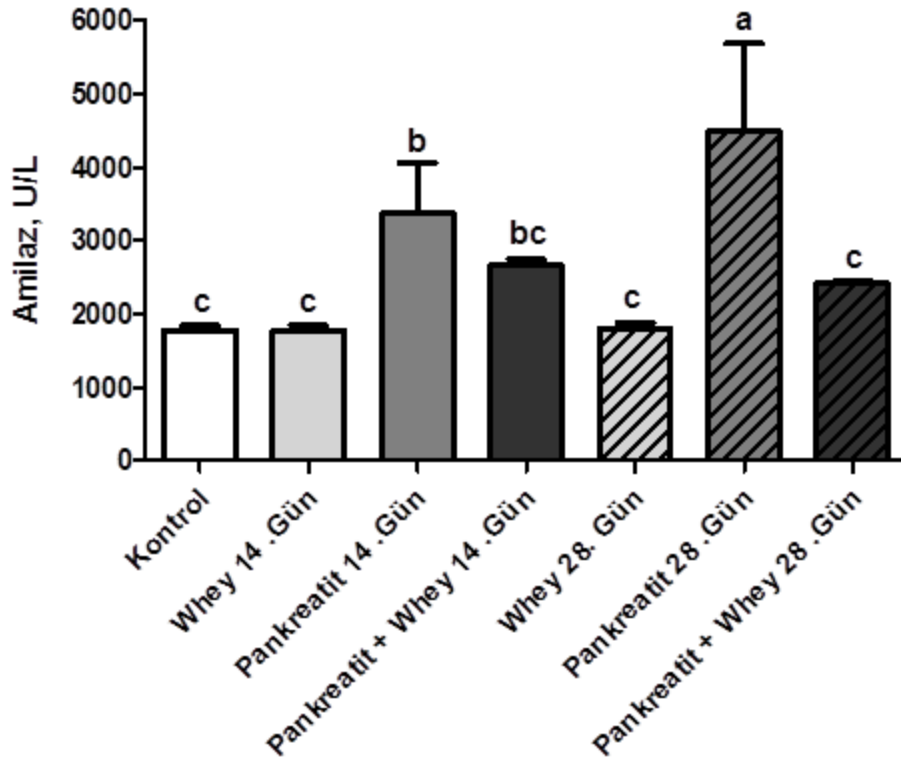


Şekil 7. Çalışmaya alınan grupların ALP değerleri açısından karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

14. gün pankreatit grubunda ($450,86 \pm 42$ U/L) ALP değerinin 28. gün pankreatit grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). 14. gün tedavi grubunda ($417,33 \pm 13$ U/L) 14. gün pankreatit grubuna göre %3' lük bir düşüklük tespit edilmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Sadece whey verilen gruplarda ALP açısından kontrol grubu ile benzer değerler elde edilmiş olup bu değerler: 14. gün $380,14 \pm 14$ U/L, 28. gün $389,17 \pm 11$ U/L' dir.

Amilaz değerleri açısından gruplar değerlendirildiğinde (Şekil 8), 28. gün pankreatit grubunda ($4493,57 \pm 1182$ U/L) kontrol grubuna ($1781,00 \pm 62$ U/L) göre 1.5 kat artış saptanmıştır. Aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). 28. gün tedavi grubunda ($2408,17 \pm 37$ U/L) 28.gün pankreatite göre ortalama amilaz değerleri %46 oranında daha düşük saptanmış olup bu değer istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

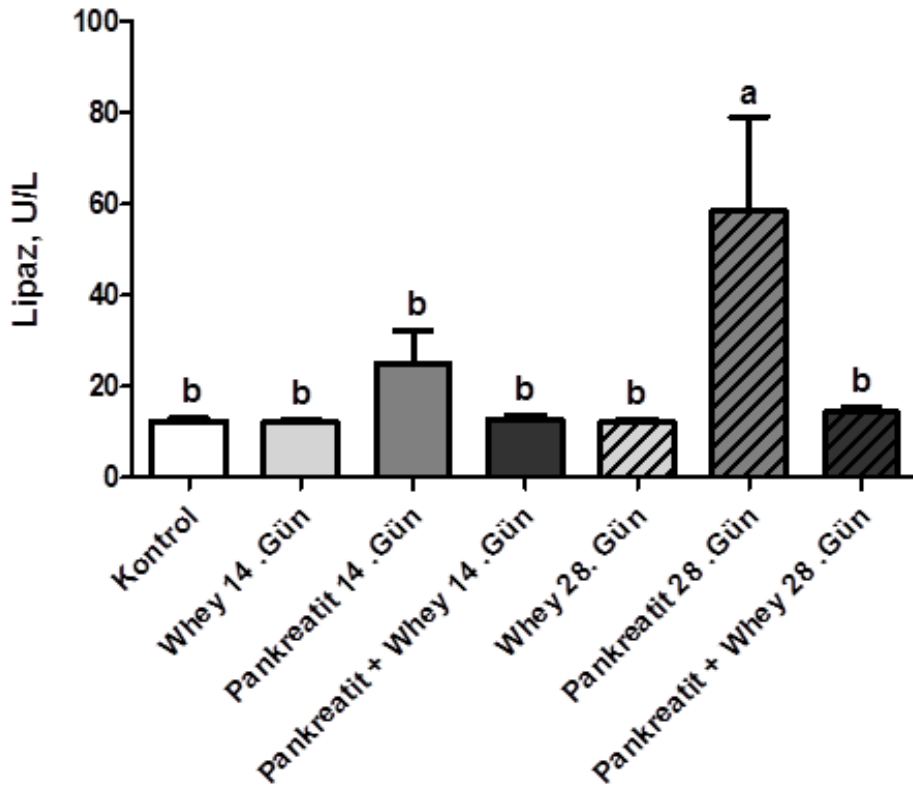


Şekil 8. Çalışmaya alınan grupların Amilaz değerleri açısından karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

14. gün pankreatit grubunda ($3364,57 \pm 693$ U/L) da amilaz değerleri açısından kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik saptanmıştır ($p < 0.05$). 14. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ($2657,50 \pm 84$ U/L) 14. gün pankreatit grubuna göre amilaz değeri, %21 daha düşük olup bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Hem 28. gün hem de 14. gün tedavi gruplarındaki amilaz değerlerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı farkı saptanmamıştır. 14. ve 28. gün whey gruplarında amilaz değerleri açısından kontrol grubu ile anlamlı fark saptanmamış olup değerler: 14.gün $1776,71 \pm 63$ U/L ve 28.gün $1807,50 \pm 71$ U/L'dir ($p > 0.05$).

Lipaz değerleri açısından gruplar incelendiğinde (Şekil 9), 28. gün pankreatit grubunda ($58,43 \pm 20$ U/L) kontrol grubuna ($12,43$ U/L) göre yaklaşık 4 katlık bir artış saptanmış olup bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 9. Çalışmaya alınan grupların Lipaz değerleri açısından karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ($14,33 \pm 1$) 28.gün pankreatit grubuna göre ortalama lipaz değerleri %76 oranında daha düşük saptanmış olup bu değer, istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). Ayrıca 28. gün tedavi grubu ile kontrol grubunun lipaz değerlerinin benzer olduğu saptanmıştır. 14. gün pankreatit grubunda ($25,14 \pm 7$ U/L) kontrol grubuna göre yaklaşık %100' lük bir artış saptanmış olup bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Hem 14 hem de 28. gün whey gruplarında lipaz değerleri açısından kontrol grubuyla anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). Bu değerler: 14. gün whey grubu için $12,14 \pm 0,6$ U/L, 28. gün whey grubu için ise $12,17$ U/L' dir.

Üre ve kreatinin düzeyleri açısından gruplar incelendiğinde çalışmaya alınan tüm ratların ortalama üre değeri, 63 mg/dl; ortalama kreatinin değeri: 0.24 mg/dl' dir. Üre ve kreatinin değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

3.3. MDA, NFkB, IL-6, TGF-B VE TNF alfa incelemeleri

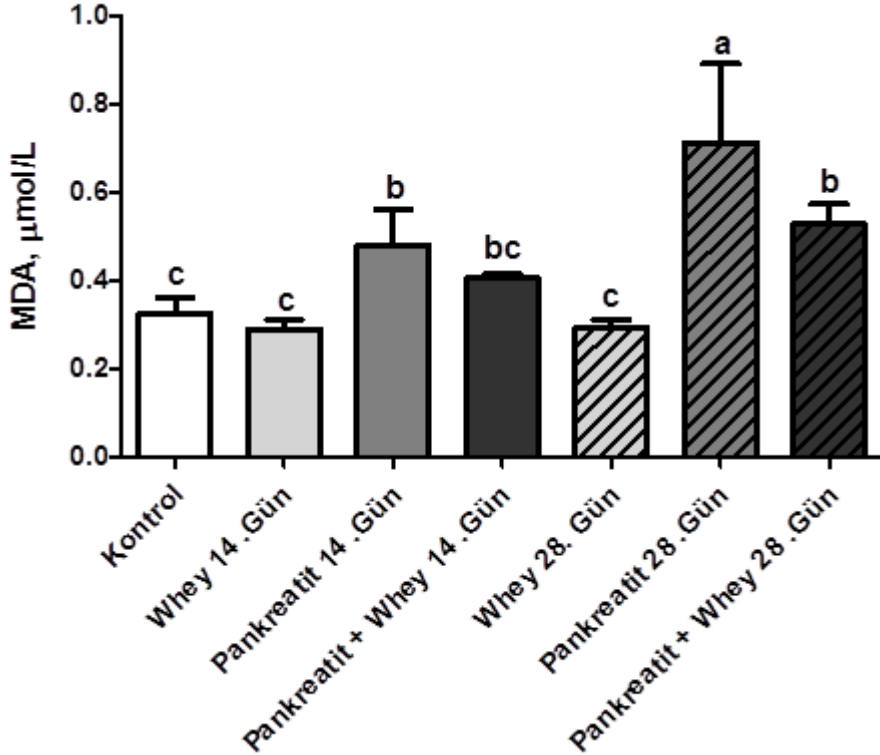
Çalışma sonunda alınan kan örneklerinden çalışılan oksidasyon belirteci malondialdehit ve pankreas dokularından çalışılan inflamasyon belirteçleri NFkB, İL-6, TGF-β ve TNF-α düzeyleri açısından gruplar karşılaştırılmış olup elde edilen veriler Tablo 6' da verilmiştir:

Tablo 6. DBTC ile pankreatit oluşturulan ratlarda whey proteininin Malondialdehit (MDA), Nükleer Faktör kappa B (NFκB), İnterlökin 6 (IL-6), Transforme edici Büyüme Faktörü Beta (TGFβ) ve Tümör Nekrozis Faktor alfa (TNFα) üzerine etkisi.

Parametreler	Gruplar							--P--
	Kontrol	Whey 14	Pankreatit 14	Pankreatit + Whey 14	Whey 28	Pankreatit 28	Pankreatit + Whey 28	
MDA (μmol/L)	0,32±0,04 ^c	0,29±0,02 ^c	0,48±0,08 ^b	0,41±0,01 ^{bc}	0,29±0,02 ^c	0,71±0,18 ^a	0,53±0,04 ^b	0,0001
NFκB	32,20±1,05 ^d	33,12±1,61 ^{cd}	36,66±0,91 ^b	35,57±1,06 ^{bc}	32,49±1,06 ^{cd}	40,73±1,17 ^a	35,22±1,11 ^{bcd}	0,009
IL-6	32,35±1,01 ^c	33,73±1,18 ^{bc}	37,54±1,16 ^a	35,47±1,31 ^{ab}	32,63±0,79 ^{bc}	34,69±0,38 ^{abc}	32,66±1,41 ^{bc}	0,017
TGFβ	32,27±0,80 ^{cd}	31,87±0,69 ^d	34,62±1,04 ^{bc}	32,47±0,57 ^{bcd}	32,43±1,28 ^{bcd}	39,43±1,06 ^a	35,08±1,06 ^b	0,015
TNFα	32,45±0,84 ^d	31,59±0,40 ^d	36,01±0,49 ^{ab}	34,41±0,54 ^{bcd}	32,93±2,07 ^{cd}	38,03±1,06 ^a	35,62±1,26 ^{abc}	0,009

a-d: Aynı satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p < 0.05$). Gruplar arası farklar Kruskal Wallis , ikili karşılaştırmalar Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Veriler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur. MDA: malondialdehit; NFκB: Nükleer faktör kappa B; IL-6: interlökin 6; TGFβ: Transforme edici Büyüme Faktörü beta; TNFα: tümör nekrozis faktor alfa

Çalışma grupları, MDA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında (Şekil 10) 28. gün pankreatit grubunda ($0,71 \pm 0,18 \mu\text{mol/L}$) kontrol grubuna ($0,32 \pm 0,04 \mu\text{mol/L}$) göre %100' ün üstünde bir artış saptanmış olup bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ($0,53 \pm 0,04 \mu\text{mol/L}$) 28. gün pankreatit grubuna göre MDA düzeyleri %25 daha düşük saptanmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

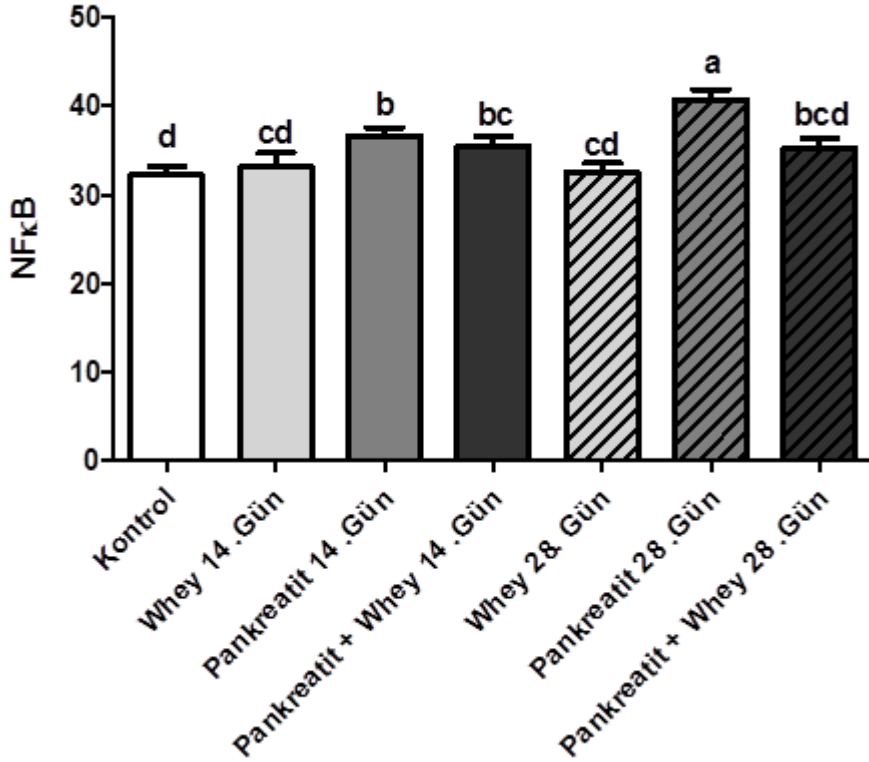


Şekil 10. Çalışmaya alınan grupların MDA değerleri açısından karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

14. gün pankreatit grubunda ($0,48 \pm 0,08 \mu\text{mol/L}$) MDA düzeyleri açısından kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik saptanmıştır ($p < 0,05$). 14. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ($0,41 \pm 0,01 \mu\text{mol/L}$) 14. gün pankreatit grubuna ($0,48 \pm 0,08 \mu\text{mol/L}$) göre %16' lık bir azalma saptanmış olup bu fark, istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Sadece whey verilen gruplarda kontrol grubuna göre daha düşük değerler saptanmıştır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Bu değerler, 14.gün whey grubu için $0,29 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$ ve 28. gün whey grubu için ise $0,29 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$ dir.

Gruplar NFκB düzeyleri açısından karşılaştırıldığında (Şekil 11) 28. gün pankreatit grubunda ($40,73 \pm 1,1$) kontrol grubuna ($32,20 \pm 1$) göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptanmıştır ($p < 0,05$). 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ($35,22 \pm 1,1$) 28. gün pankreatit grubuna göre NFκB düzeyleri %15 daha düşük saptanmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).



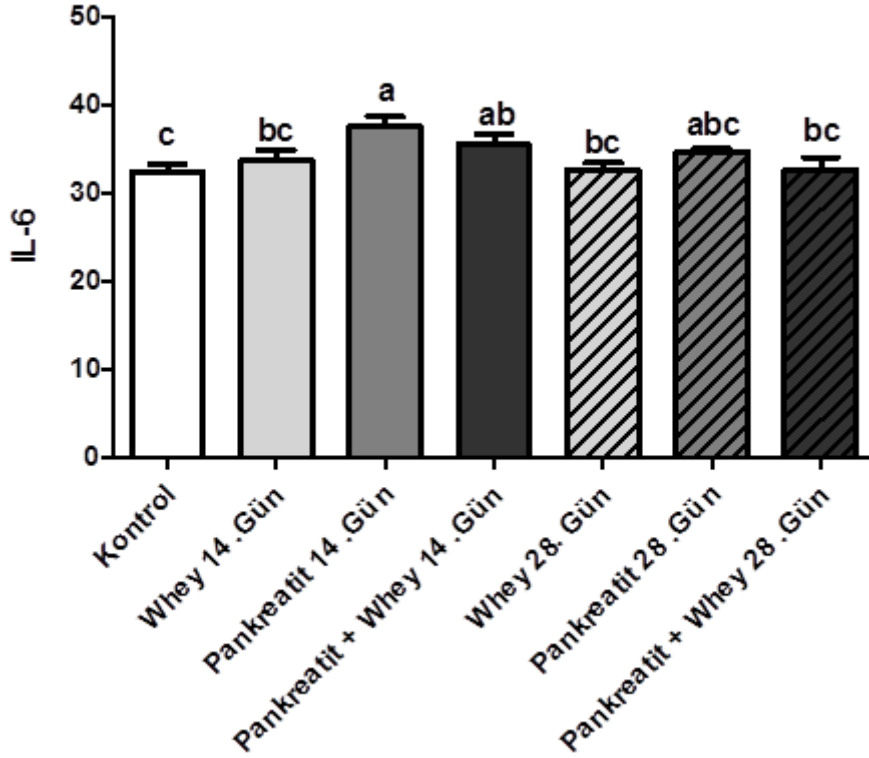
Şekil 11. Çalışmaya alınan grupların NFκB değerleri açısından karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

14. gün pankreatit grubunda ($36,66 \pm 0,9$) NFκB düzeyleri açısından kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik saptanmıştır ($p < 0,05$). 14. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ($35,57 \pm 1$) 14. gün pankreatit grubuna göre düşüklük saptanmıştır ancak bu fark, istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Sadece whey verilen gruplarda kontrol grubuna göre daha yüksek değerler saptanmıştır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Bu değerler, 14. gün whey grubu için $33,12 \pm 1$ ve 28. gün whey grubu için $32,49 \pm 1$ ’ dir.

Gruplar IL-6 düzeyleri açısından karşılaştırıldığında (Şekil 12) 28. gün pankreatit grubunda ($34,69 \pm 0,4$) kontrol grubuna ($32,35 \pm 1$) göre daha yüksek IL-6

düzeyleri saptanmıştır ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

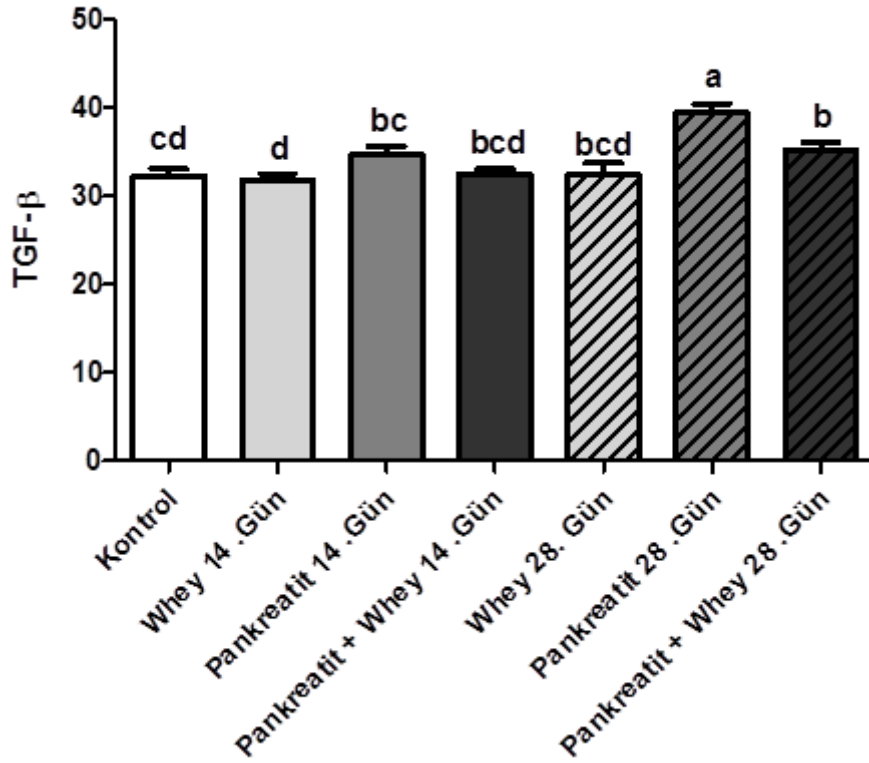


Şekil 12. Çalışmaya alınan grupların İL-6 değerleri açısından karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ($32,66 \pm 1,4$) 28. gün pankreatit grubuna göre İL-6 düzeyleri düşük saptanmıştır ancak hem 28. gün pankreatit hem de 28. gün tedavi grubunda kontrol grubundan anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). En yüksek İL-6 düzeyi 14. gün pankreatit grubunda ($37,54 \pm 1,1$) saptanmış olup 28. gün pankreatit grubundan istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek değildir ($p>0,05$). 14. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ($35,47 \pm 1,3$) 14. gün pankreatit grubuna göre %8 daha düşük İL-6 düzeyleri saptanmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Fibrozis belirteçlerinden olan TGF- β düzeyleri açısından çalışma grupları karşılaştırıldığında (Şekil 13) 28. gün pankreatit grubunda ($39,43 \pm 1$) en yüksek değer saptanmış olup bu değer kontrol grubuna ($32,27 \pm 0,8$) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

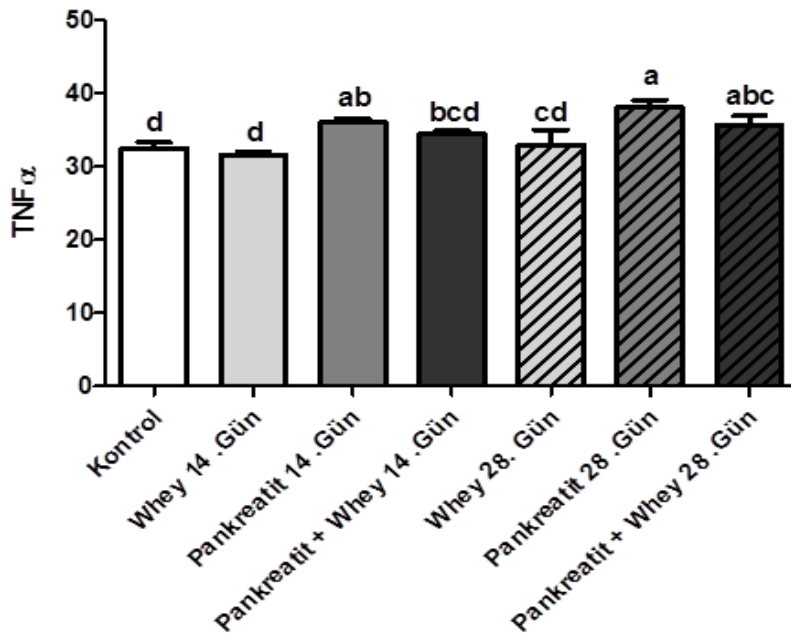


Şekil 13. Çalışmaya alınan grupların TGF- β değerleri açısından karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

28. gün tedavi grubunda ($35,08 \pm 1$) 28. gün pankreatit grubuna göre TGF- β düzeyi, %11 daha düşük saptanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). 14. gün pankreatit grubu ($34,62 \pm 1$) TGF- β düzeyleri, kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır ancak bu düzey, istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Sadece whey verilen gruplarda TGF- β düzeyleri kontrol grubu ile benzer saptanmış olup değerler; 14. gün whey grubunda $31,87 \pm 0,7$ ve 28. gün whey grubunda $32,43 \pm 1,3$ olarak saptanmıştır.

Çalışma grupları TNF- α düzeyleri açısından karşılaştırıldığında (Şekil 14) en yüksek değer 28. gün pankreatit grubunda ($38,03 \pm 1$) saptanmış olup bu fark kontrol grubu ($32,45 \pm 0,8$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).



Şekil 14. Çalışmaya alınan grupların TNF- α değerleri açısından karşılaştırılması

(a-e: Farklı harfi taşıyan sütunlar (ortalamalar) arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.)

28. gün tedavi grubunda ($35,62 \pm 1,2$) TNF- α düzeyleri, 28. gün pankreatit grubuna göre %6 daha düşük saptanmıştır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). 14. gün pankreatit grubunda ($36,01 \pm 0,5$) TNF- α düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p < 0,05$). 14. gün tedavi grubunda ($34,41 \pm 0,5$) 14. gün pankreatit grubuna göre %4 daha düşük TNF- α düzeyi saptanmıştır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Sadece whey verilen gruplarda TNF- α düzeyleri kontrol grubuyla benzer bulunmuş olup bu değerler 14. gün whey grubu için $31,59 \pm 0,4$ ve 28. gün whey grubu için $32,93 \pm 2$ dir.

3.4. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal bulgular

Çalışmaya alınan ratlardan elde edilen pankreas dokuları hemotoksilen eozin boyası ile boyanarak dokudaki inflamasyon, atrofi ve fibrozis açısından değerlendirildi (Şekil 15, 16). Ayrıca proliferasyon göstergesi olan Ki-67 immünohistokimyasal boyaması yapılarak hücrelerin hangi oranda boyandığı incelenmiş (Şekil 17) olup histolojik ve immünohistokimyasal bulgular Tablo 7’ de gösterilmiştir:

Tablo 7. DBTC ile pankreatit oluşturulan ratlarda whey proteininin pankreas dokusu histopatolojik bulguları üzerine etkisi.

Parametreler	Gruplar							--P--
	Kontrol	Whey 14	Pankreatit 14	Pankreatit + Whey 14	Whey 28	Pankreatit 28	Pankreatit + Whey 28	
İnflamasyon*	0,29+0,49 ^b	0,43+0,79 ^b	2,14+0,90 ^a	1,17+0,75 ^{ab}	0,83+0,75 ^b	2,14+0,69 ^a	1,33+0,52 ^{ab}	0,0001
Atrofi*	0,00+0,00 ^b	0,00+0,00 ^b	0,57+0,79 ^{ab}	0,17+0,41 ^b	0,17+0,41 ^b	1,43+0,79 ^a	0,50+0,55 ^b	0,002
Fibrozis*	0,00+0,00 ^d	0,00+0,00 ^d	1,71+0,76 ^{ab}	0,50+0,55 ^{cd}	0,17+0,41 ^d	2,57+1,13 ^a	1,50+0,55 ^{bc}	0,0001
Ki67, %	0	0	1	0-1	0	1-2	0-1	-

a-d: Aynı satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p < 0.05$). Gruplar arası farklar Kruskal Wallis, ikili karşılaştırmalar Mann

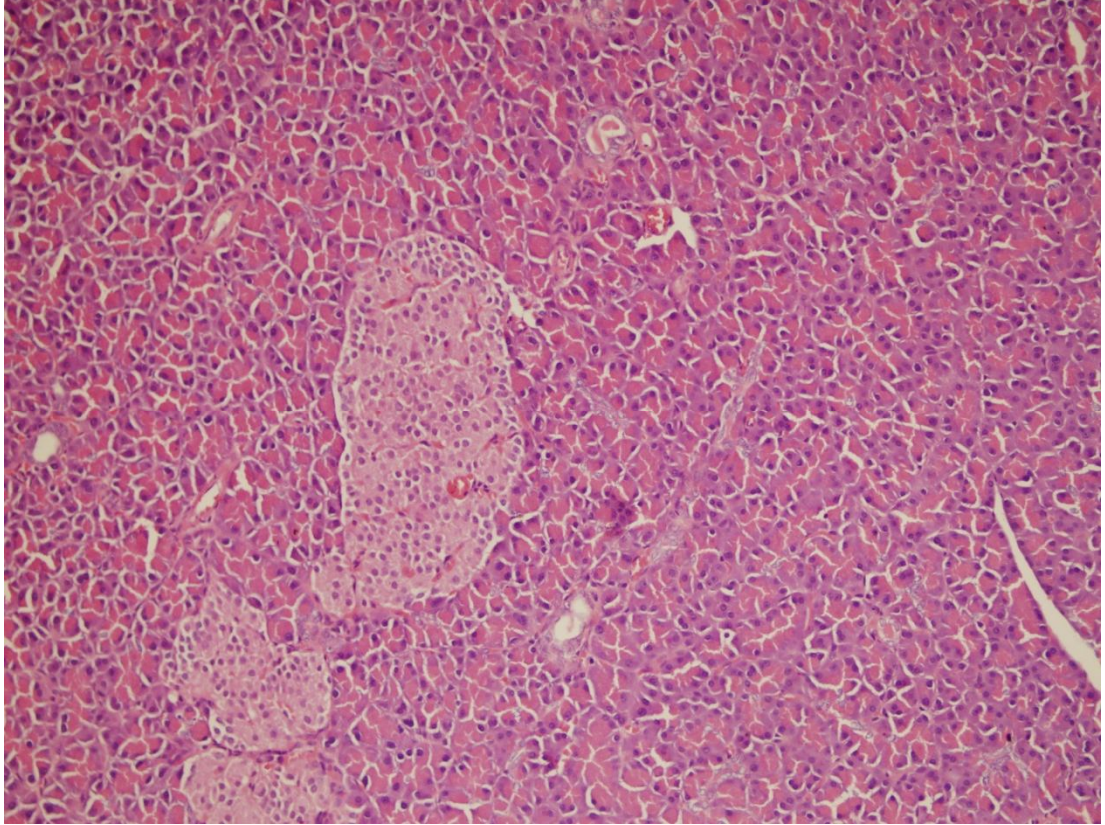
Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. * 0:yok, 1:hafif, 2: orta, 3: şiddetli şeklinde değerlendirilmiştir.

İnflamasyon varlığı ve seviyesi açısından çalışma grupları incelendiğinde 28. gün pankreatit grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek yükseklik saptanmıştır ($p<0.05$). 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda 28. gün pankreatit grubuna göre inflamasyon şiddetinde düşüklük saptanmıştır ancak bu düşüklük, istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). 14. gün pankreatit grubunda saptanan inflamasyon şiddeti, 28. gün pankreatit grubu ile benzerdir ($p>0.05$). 14. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda 14. gün pankreatit grubuna göre inflamasyon şiddeti açısından daha düşük değer saptanmıştır ancak bu düşüklüğün de istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Sadece whey verilen gruplarda pankreastaki inflamasyonun kontrol grubu ile benzer olduğu saptanmıştır.

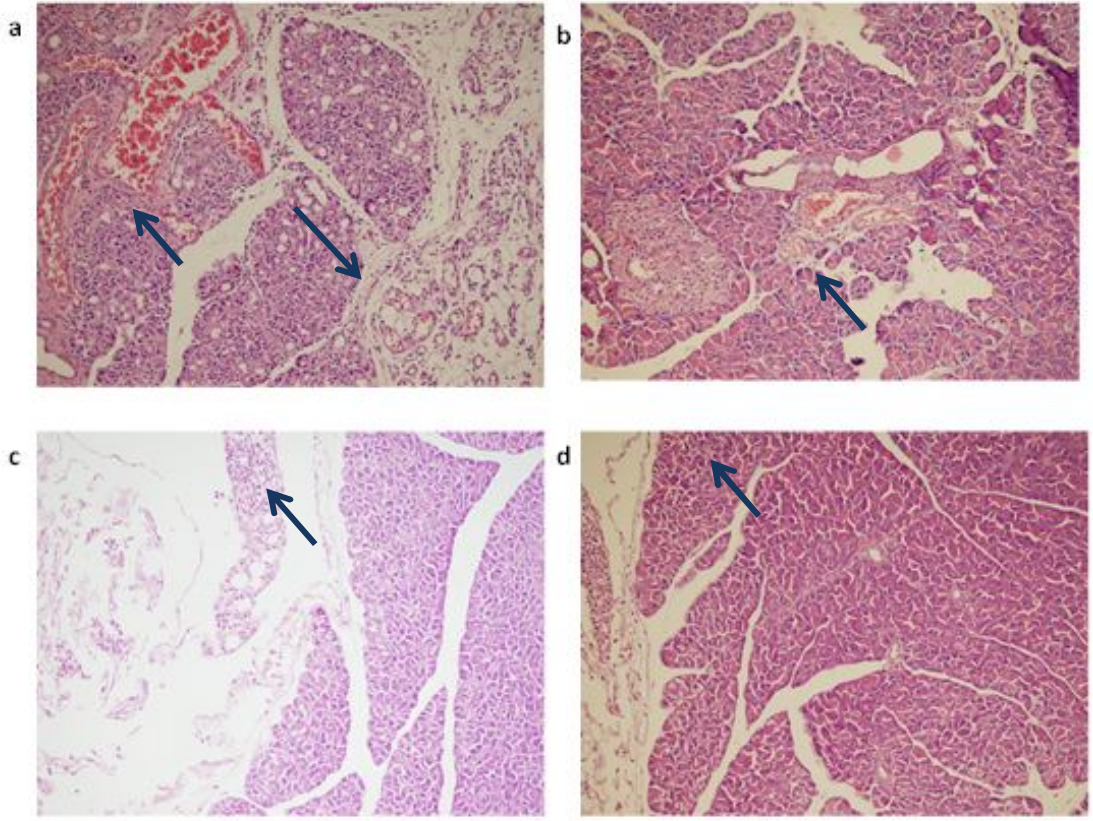
Pankreastaki bez yapılarının atrofi açısından çalışma grupları incelendiğinde 28. gün pankreatit grubunda kontrol grubuna göre atrofinin daha şiddetli olduğu saptanmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda 28. gün pankreatit grubuna göre atrofi şiddeti, istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuş ($p<0.05$) olup atrofi düzeyinin kontrol grubuyla benzer olduğu saptanmıştır. 14. gün pankreatit grubundaki ortalama atrofi şiddeti kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Pankreasta oluşan fibrozis şiddeti açısından gruplar değerlendirildiğinde, 28. gün pankreatit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek düzeyler saptanmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda 28. gün pankreatit grubuna göre fibrozis şiddetinde düşüklük saptanmış olup bu düşüklüğün istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubundaki fibrozis şiddetinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). 28. gün pankreatit grubunda 14. gün pankreatit grubuna göre fibrozis açısından yüksek düzey saptanmıştır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). 14. gün pankreatit grubundaki fibrozis şiddetinin kontrol grubundan daha fazla olduğu saptanmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). 14. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda 14.gün

pankreatit grubuna göre fibrozis şiddetinde düşüklük saptanmış olup bu düşüklüğün istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Ayrıca 14. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda saptanan fibrozis düzeyinin kontrol grubu ile benzer olduğu tespit edilmiştir. 14 ve 28 gün whey verilen ratlardan sadece 28. gün whey grubundaki bir rat pankreasında hafif fibrozis izlenmiştir.

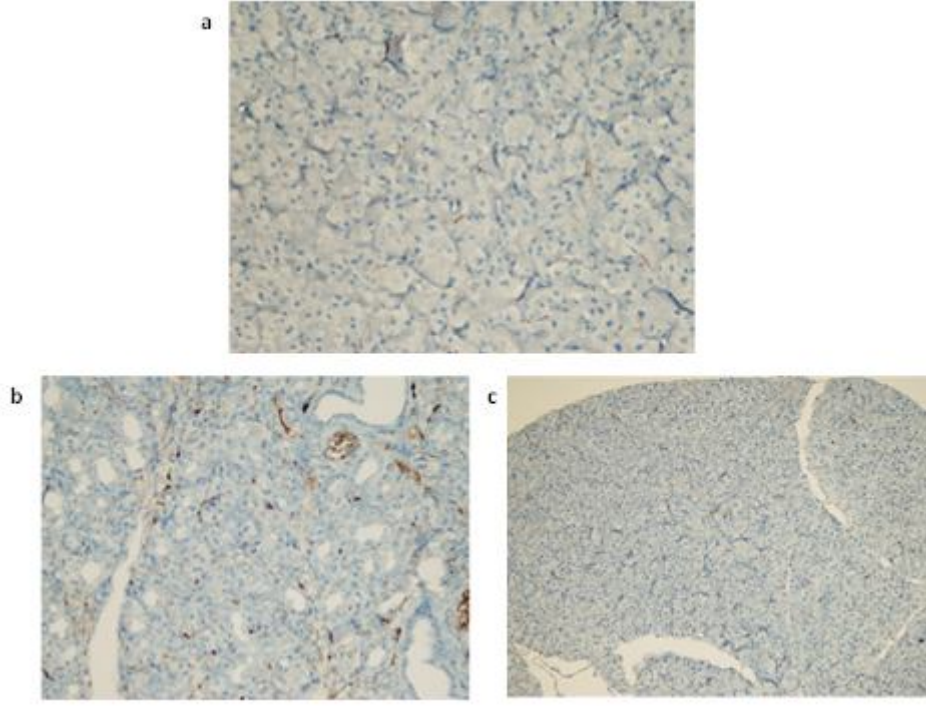


Şekil 15. Kontrol grubu pankreas dokusunun histolojik görünümü (hematoksilen eosin x200)



Şekil 16. Pankreatit ve Tedavi (whey+pankreatit) gruplarının histopatolojik görünümü (hematoksilen eosin x200): **a)** 28. gün pankreatit; yoğun fibrotik doku gözlenmekte (oklar) ve pankreatik hücresel mimari bozulmuş **b)** 28. gün tedavi (whey+pankreatit); pankreas hücrelerinde mimari yapı korunmuş, hafif şiddette fibrozis mevcut (ok) **c)** 14.gün Pankreatit; fibrozis oluşmaya başlamış ve pankreatik hücreler normal yapılarını kaybetmekte (ok) **d)** 14. gün tedavi; hücresel yapı korunmuş ve yer yer iltihabi infiltrasyonlar mevcut (ok).

Proliferasyon göstergesi olan Ki-67' nin immünohistokimyasal olarak boyanması ile elde edilen materyallerin incelenmesi sonucunda en yüksek 28. gün pankreatit grubunda Ki-67 değeri saptanmış olup bu değer %1-2 civarındadır. 14. gün pankreatit grubunda %1 oranında Ki-67 eksprese eden hücre saptanmış olup tedavi gruplarında bu oranın %0-1 civarında olduğu görülmüştür.



Şekil 17. KI-67 ile immünohistokimyasal inceleme **a)** normal pankreas (x200), **b)** 28. gün pankreatit (x200) **c)** 28. gün tedavi (whey+pankreatit) (x100).

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, dibutiltin diklorit ile 28 günde oluşturulan kronik pankreatit modelinde whey proteinin koruyucu etkisi araştırılmış olup ayrıca kronik pankreatit oluşum sürecine etkisini belirlemek için 28. gün kronik pankreatit verileri, 14. gün verileriyle karşılaştırıldı.

Çalışmamızda antioksidan ve anti-inflamatuvar etkileri gösterilmiş olan whey proteininin kronik pankreatitten koruyucu olabileceği gösterildi. Kronik pankreatit tedavisinde birçok antioksidan madde denenmiş olup bunların bir kısmının etkili olduğu gösterilmişken bazılarının da faydalı olmadığı saptanmıştır.

Uden ve ark. (186) tarafından 1992 yılında yapılan ve selenyum, beta karoten, vitamin C, vitamin E, metionin içeren kapsüllerin tekrarlayan pankreatit üzerine etkilerini inceleyen çalışmada, çalışılan maddelerin oksidatif stresi azalttığı ve pankreatit tedavisinde aktif olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Ayrıca antioksidanların bu etkilerinin metioninin transsülfürasyon yolağının korunmasıyla elde edilmiş olabileceği düşünülmüştür.

Sriwerdana ve ark. (140) tarafından 2012 yılında yapılan ANTICIPATE çalışmasında 70 kronik pankreatitli hastaya metionin, vitamin C, vitamin E ve selenyum içeren tabletler (Antox) günde 3 kez ikişer tablet olarak verilmiş. Altı aylık izlemde hastaların metionin, selenyum, vitamin C ve E serum düzeyleri yüksek olarak saptanmasına rağmen ağrı skalalarında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmamıştır. Hastaların çoğu alkolik nedenli kronik pankreatit olduğundan alkolik pankreatitli hastalarda antioksidan tedavinin ağrı, yaşam kalitesi açısından fayda sağlamadığı belirtilmiştir.

2015 yılında Rustagi ve Niei (187).tarafından yapılan, antioksidan tedavinin kronik pankreatitte ağrı azalmasına etkisini inceleyen bir meta-analizde toplam 446 hastanın alındığı 8 çalışma incelenmiş ve antioksidan tedavinin kronik pankreatite eşlik eden ağrıda plaseboya göre anlamlı azalma sağladığı saptanmış. Alt grup analizlerinde özellikle alkolik pankreatitli ve 42 yaş üzerindeki hastalarda bu azalmanın daha belirgin olduğu saptanmıştır.

Merkord ve ark. (76) tarafından yapılan çalışmada, tek doz 6 mg/kg DBTC ile pankreatit oluşturulmaya çalışılan ratların sadece %35' inde 28. günde kronik pankreatit göstergesi olan fibrozis geliştiği bildirilmiş olup çalışmamıza alınan ve 28. günde 8 mg/kg tek doz uygulamayla kronik pankreatit oluşturulması istenen ratların %100' ünde pankreas dokusunda fibrozis saptandı. Hatta 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubundaki ratların bir tanesi hariç tümünde pankreas dokusunda fibrozis saptanmış olup bir rat orogastrik lavajdan kaynaklanan sorun nedeniyle çalışmanın ilk haftasında öldüğünden geriye kalan bir rat hakkında değerlendirme yapılamadı. Ayrıca çalışmamızda Inoue ve ark.' ın (188) çalışmasına uygun olarak 14. gün pankreatit grubundaki ratların da hepsinde pankreasta fibrozis görüldü. Bu durum, Merkord ve ark.' ın (76) çalışmasında kronik pankreatit oluşturmak için kullanılan 6 mg/kg DBTC dozunun yeterli gelmeyebileceğini düşündürmektedir.

Başlangıç ağırlıkları açısından homojen olan çalışma gruplarında çalışma bitiminde özellikle 28. gün pankreatit grubunda ağırlık kaybı saptanmış olup 14. gün pankreatit grubunda ise diğer 14. gün gruplarına göre ortalama ağırlık düşük saptanmıştır. Bu durum pankreatit gelişen ratlarda ağırlığın beklenen ağırlıktan daha düşük olabileceğini düşündürmekte olup kronik pankreatite bağlı pankreastaki hasar ile ağırlıktaki azalmanın doğru orantılı olduğu izlenimini vermektedir. Ayrıca 2014 yılında Robles ve ark. (189) tarafından yapılan çalışmada da multipl skleroz tedavisinde kullanılmaya başlanan dimetil fumaratın kronik pankreatit modelindeki etkisi araştırılmış ve tedavi verilmeyen ratlarda 6 hafta sonunda belirgin ağırlık kaybı olduğu saptanmıştır.

Hem 14 hem de 28. gün tedavi gruplarında pankreatit gruplarına göre bitiş ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı düzelme sağlanması, whey proteinin kilo kaybına neden olan etkenleri azaltarak kilo kaybını azalttığını düşündürmektedir. Nitekim Masoni ve ark. (190) tarafından yapılan çalışmada yaşlılığa bağlı kilo kaybında yüksek doz whey proteini vermenin ağırlık kaybını azaltabileceği saptanmıştır. Haraguchi ve ark. (191) tarafından 2014 yılında yapılan çalışmada egzersiz sırasında whey proteini verilen ratlarda sadece egzersiz yapan gruba göre bitiş ağırlığı daha yüksek saptanmış olup ayrıca kas kitlesinin de arttığı tespit

edilmiştir. Aşırı kilolu ve obezlerde whey proteininin plazma serbest yağ asidi düzeylerini düşürdüğünü gösteren çalışma (163) da göz önüne alınırsa whey proteinin kilo alımını yağ dokusundan ziyade kas dokusu üzerinden gerçekleştirdiği düşünülebilir.

Kan glukoz düzeylerinin sadece 28. gün pankreatit grubunda artması, benzer bir artışın 14. gün pankreatit grubunda saptanmamış olması, pankreastaki hasarın belirli bir seviyeye geldikten sonra endokrin hasara yol açtığı tezini destekler niteliktedir. Endokrin yetmezlik gelişmesi için insanlarda pankreasın %40-80 oranında hasar görmesi gerektiği belirtilmiştir (133). 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda kan glukoz düzeyinde pankreatit grubuna göre anlamlı düşüklük saptanması, whey proteinin pankreatik hasarı azalttığının göstergesi olabilir. Whey proteini verilen gruplarda glukoz düzeyleri açısından kontrol grubundan anlamlı fark saptanmamış olması whey proteininin hipoglisemiye neden olmadığını düşündürmektedir. Tip 2 diyabetli insanlarda whey proteini alımını açlık plazma insülin seviyesinde azalmaya neden olması, insülin direnci üzerine de olumlu etki ettiğini düşündürmektedir (164). Dolayısıyla çalışmamızda whey proteini, 28. gün tedavi grubundaki düzelmeye pankreatik hasara etkisinin yanı sıra inflamatuvar sürece bağlı gelişebilecek insülin direncini azaltarak da etki etmiş olabilir.

Merkord ve ark. (192) tarafından yapılan çalışmada DBTC ile oluşturulan kronik pankreatit modelinde ortak safra kanalı epitelinde inflamasyonun başladığı ve mukozadan kopan inflamatuvar komponentlerin ortak kanalın distalinde tıkanıklık oluşturmaya bağlı pankreasta inflamasyon başladığı belirtilmiştir. Oluşan ekstrahepatik kolestaz nedeniyle safra kanalı komşuluğundaki karaciğerde inflamasyon olduğu ve serum ALP seviyesinin yükseldiği belirtilmiştir. Çalışmamızda karaciğer parankim hasarını gösteren AST ve ALT düzeylerinin kronik pankreatit grubunda anlamlı olarak yükseldiği saptanmış olup 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ise anlamlı olarak azalma tespit edilmiştir. Ayrıca kalp, böbrek, beyin gibi birçok dokuda olduğu bilinen AST' nin 28. gün pankreatit grubunda, AST' nin bulunduğu ve çalışmamızda incelenmeyen dokulardaki hasara bağlı daha yüksek olabileceği ve tedavide verilen whey proteininin pankreas,

karaciğer ile birlikte DBTC tarafından hasara uğratılan AST' nin bulunduğu diğer dokulardaki hasarı azaltması nedeniyle bu farkın anlamlı olduğu düşünülebilir.

14. gün pankreatit grubundaki ALP değerinin yüksek olmasına rağmen bu farkın kontrol grubuna göre anlamlı olmaması bununla birlikte 28. gün pankreatit grubunda ALP değerinin anlamlı olarak yüksek olması, DBTC' ye bağlı safra yolları hasarının giderek arttığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda pankreatitte koruyucu etkisini incelediğimiz whey proteininin AST, ALT, ALP gibi karaciğer ile ilişkili enzimlerin düzeylerinde de düzelme sağladığı saptandı. Bu durum whey proteininin pankreatik hasar ile birlikte hepatik hasara karşıda etkili olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim Kume ve ark. (172) tarafından D-galaktozamin ile oluşturulan hepatotoksisite modelinde whey proteininin AST, ALT, ALP, bilirubin gibi değerlerde düzelme görüldüğü belirtilmiştir. Jobara ve ark. (173) tarafından whey proteininin karaciğer fibrozisine etkisini incelendiği çalışmada, whey proteininin karaciğer fibrozisinden koruyucu olabileceği ortaya konmuştur. Ancak bu çalışmada gruplara verilen beslenme solüsyonlarının özellikle C ve E vitamini gibi antioksidan maddeler açısından farklı dozlarda olması, çalışma sonucunun güvenilirliği açısından şüpheyle yaklaşılmasını gerektirmekle birlikte bizim çalışmamızda da whey proteininin karaciğer hasarını gösteren enzimler üzerine faydalı olabileceği saptandı.

Çalışmamızda pankreas enzimlerinden amilaz ve lipaz değerleri en yüksek 28. gün pankreatit grubunda saptanmış olup 14. günde 28. güne nispeten daha düşük saptandı. Bu durum, amilaz ve lipaz değerlerinin pankreastaki hasar devam ettikçe giderek yükseldiğini düşündürmekle birlikte kronik pankreatitin ileri evrelerinde amilaz, lipaz düzeylerinde yükseklik olmayabileceği (5) bilgisiyle çelişmektedir. Çalışmamızdaki progresif yükselmenin nedeninin pankreastaki fibrozis/normal doku oranı ile ilişkili olabileceği düşünüldü ancak fibrozis ilerleyip tüm pankreas fibrotik hale gelince amilaz ve lipaz enzimlerinde artış olmayabileceği öngörüldü. 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda 28. gün pankreatit grubuna göre hem amilaz hem de lipaz değerlerinde anlamlı olarak düşüş saptanması whey proteininin pankreatik hasarı önleyici etkisi olduğunu düşündürdü. 14. gün pankreatit grubundaki lipaz

değerinin kontrol grubu lipaz değerinin yaklaşık olarak 2 katı olmasına rağmen bu farkın anlamlı olmamasının çalışmaya alınan hayvan sayısının bu ilişkiyi açıklamak için yetersiz kalmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

Üre ve kreatinin değerlerinin kontrol grubuyla benzer olması nedeniyle pankreatit modeli oluşturmak için verilen DBTC' nin veya koruyucu etkisi incelenen whey proteininin böbrek üzerine herhangi bir toksik etkileri olduğu düşünülmeydi. DBTC ile yapılan çalışmalarda (75, 76) nefrotoksisite varlığı saptanmamış olup, whey proteininin nefrotoksisite üzerine etkisini inceleyen literatürde az sayıda çalışma mevcuttur. Bu durum whey proteininin nefrotoksisiteye etkilerini inceleyen çalışmaların gerekliliği konusunda fikir vericidir.

Oksidasyon belirteçlerinden olan kan MDA düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, 28. gün pankreatit grubunda MDA düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmış olup 28. gün tedavi (whey+pankreatit) grubunda ise anlamlı azalma gözlemlendi. Bu durum, whey proteininin antioksidan olarak aktivite gösterdiğini düşündürmekte olup karaciğer toksisitesi (166, 172, 173) ile ilgili yapılmış çalışmalarda da whey proteininin antioksidan etkisi gösterilmiştir.

2005 yılında yapılan bir çalışmada serulein ile oluşturulmuş kronik pankreatit modelinde serulein sonrası pankreas dokusundaki MDA düzeylerinde yükseklik saptanmış olup 5. ve 10. haftalardaki MDA düzeyleri benzer olarak saptanmış. Amilaz düzeylerinde de 5. ve 10. haftalarda belirgin yükseklik saptanmış olup 10. haftada 5. haftaya göre daha düşük serum amilaz düzeyleri saptanmış. NFκB düzeylerinde de 5. ve 10. haftalarda benzer olmakla birlikte normale göre anlamlı yükseklik tespit edilmiş (193). Çalışmamızda da benzer şekilde pankreatit grubunda MDA, amilaz, NFκB, TGF-β, ve TNF-α düzeylerinde artış saptanmış olup tedavi grubunda (whey+pankreatit) bu değerlerin hepsinde iyileşme sağlandığı görüldü.

DBTC ile kronik pankreatit oluşturularak yapılmış çalışmalarda da 28. günde TGF-β, TNF-α düzeylerinde anlamlı olarak artış saptanmıştır (57, 194). Ayrıca İL-6 reseptör inhibitörü verilerek pankreatite bağlı ağrı üzerine etkisini inceleyen çalışmada İL-6 reseptör inhibitörü verilmesinin DBTC ile oluşturulan pankreatit modelinde ağrıyı azalttığı saptanmıştır. Bu durum pankreatit

patogenezinde İL-6' nın da önemi olduğunu düşündürmektedir (56). Çalışmamızda İL-6 seviyesinin 14. gün pankreatit grubunda 28. gün pankreatit grubuna göre yüksek olmasının nedeninin İL-6' nın inflamasyonun erken evrelerinde rol oynayan makrofajlardan lenfositlere göre daha fazla salınmasının rolü olabileceği düşünülmektedir. Hem 14 hem de 28. gün tedavi grubu ile pankreatit grupları arasında İL-6 açısından saptanan iyileşmenin istatistiksel olarak anlamlı olmaması, whey proteininin etkisini İL-6 üzerinden göstermediğini düşündürmektedir. TNF- α düzeyleri açısından da tedavi (whey+pankreatit) gruplarında pankreatit gruplarına göre iyileşme gözlenmesi ancak bu iyileşmenin istatistiksel olarak anlamlı olmaması, whey proteinin TNF- α üzerine etki etmediğini göstermekle birlikte çalışılan hayvan sayısının bu ilişkiyi açıklamak için yeterli olmadığını düşündürmektedir. Whey proteinin karaciğer toksisitesine olan etkilerini inceleyen çalışmalarda whey proteininin TNF- α düzeyini azalttığı saptanmıştır (172,173).

Çalışmamızda histopatolojik incelemelerin sonucunda 28. gün pankreatit grubunda inflamasyon, atrofi ve fibrozis açısından en yüksek değerler elde edilmiş olup DBTC ile oluşturulan kronik pankreatit modellerinde 28. günde pankreas dokusunda fibrozisin yerleştiği gösterilmiştir. Inoue ve ark. (188) tarafından 2002 yılında yapılan bir çalışmada tek doz DBTC verildikten sonraki 7. günden itibaren fibrozisin görülmeye başladığı, 28. günde ise interstisyel fibrozis, bez yapılarının atrofisi ve pankreatik kanal benzeri tübüler yapı oluşumunun arttığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda tedavi (whey+pankreatit) gruplarında, hem 14 hem de 28. gün pankreatit gruplarına göre inflamasyon, atrofi ve fibroziste iyileşme saptanmış olup en belirgin etkinin fibrozis üzerine olduğu gözlemlendi. Whey proteininin karaciğer fibrozisi üzerine etkilerini inceleyen çalışmada da whey proteininin fibrozisi azalttığı gösterilmiştir (173). 28. gün whey grubundaki bir rat pankreasında hafif fibrozis görülmüş olup bu durumun ratın bireysel özelliklerinden kaynaklanabileceği düşünüldü.

Proliferasyon belirteci olan Ki-67 düzeyi 28. gün pankreatit grubunda % 1-2 olarak saptandı ancak bu değer, oluşan kronik pankreatit modelinin pankreas kanseri ile ilişkisini açıklamak için yeterli değildi. Kronik pankreatit ile pankreas kanseri

ilişkisini incelemek için modelin süresinin arttırılmasının faydalı olabileceği düşünüldü. Nitekim insanlarda kronik pankreatiti takiben 20 yıl sonra pankreas kanseri geliştiği belirtilmiş olup çalıştığımız modelde pankreas kanseri ile ilişkiyi incelemek için gereken süre ile ilgili bir yorum yapılamadı.

Sonuç olarak antioksidan ve anti-inflamatuvar etkileri olan whey proteininin, dibutitn diklorit ile oluşturulmuş kronik pankreatit modelinde başta fibrozis olmak üzere oksidatif stres belirteci olan malondialdehit ve inflamasyonda rol alan NFκB ve TGF-β gibi sitokinlerin düzeyinde iyileşme sağladığı saptanmıştır. Bu durum, whey proteininin kronik pankreatitten koruyucu rolünün olabileceğini göstermektedir.

5. KAYNAKLAR

1. Ammann RW, Akovbiantz A, Largiader F, Schueler G. Course and outcome of chronic pancreatitis. Longitudinal study of a mixed medical-surgical series of 245 patients. *Gastroenterology* 1984; 86: 820-828.
2. Chari ST, Singer MV. The problem of classification and staging of chronic pancreatitis. Proposals based on current knowledge of its natural history. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 949-960.
3. Andersen BN, Pedersen NT, Scheel J, Worning H. Incidence of alcoholic chronic pancreatitis in Copenhagen. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17: 247-252.
4. Olsen TS. Lipomatosis of the pancreas in autopsy material and its relation to age and overweight. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 1978; 86: 367-373.
5. Forsmark CE. Pancreatitis In: Goldman L, Ausiello D (ed). *Goldman' s Cecil Medicine*. Philadelphia: Elsevier Press, 2011; 23: 1075-1078.
6. Braganza JM, Lee SH, McCloy RF, McMahon MJ. Chronic Pancreatitis. *Lancet* 2011; 377: 1184-1197.
7. Sarner M, Cotton PB. Classification of Pancreatitis. *Gut* 1984; 25: 756-759.
8. Walzem RL, Dillard CJ, German JB. Whey components: Millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: What we know and what we may be overlooking. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2002; 42: 353-375.
9. Anthony JC, Anthony TG, Kimball SR, Jefferson LS. Signaling pathways involved in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine. *J Nutr* 2001; 131: 856-860.
10. Ward PP, Uribe-Luna S, Coneely OM. Lactoferrin and host defense. *Biochem Cell Biol* 2002; 80: 95-102.
11. Kimber I, Cumberbatch M, Dearman RJ, Headon DR, Bhushan M, Griffiths CE. Lactoferrin: influences on langerhans cells, epidermal cytokines, and cutaneous inflammation. *Biochem Cell Biol* 2002; 80: 103-107.
12. Rusu D. A bovine whey protein extract stimulates human neutrophils to generate bioactive IL-1Ra through a NFkB and MAPK dependent mechanism. *J Nutr* 2010; 140: 382-391.

13. Bounous G, Gervais F, Amer V. The influence of dietary whey protein on tissue glutathione and the diseases of aging. *Clin Invest Med* 1989; 12: 343-349.
14. Hojo Y. Sequential study on glutathione peroxidase and selenium contents of human milk. *Sci Total Environ* 1986; 52: 83-91.
15. Sundberg J, Ersson B, Lonnerdal B, Oskarsson A. Protein binding of mercury in milk and plasma from mice and man- a comparison between methylmercury and inorganic mercury. *Toxicology* 1999; 137: 169-184.
16. Ha E, Zemel M. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *J Nutr Biochem* 2003; 14: 251-258.
17. Yadav D, Timmons L, Benson JT, Dierkhising RA, Chari ST. Incidence prevalence, and survival of chronic pancreatitis: a population- based study. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 2192- 2199.
18. Lin Y, Tamakoshi A, Matsuno S. Nationwide epidemiological survey of chronic pancreatitis in Japan, *J Gastroenterol* 2000; 35: 136–141.
19. Anonymous. Copenhagen pancreatitis study. An interimreport from a prospective epidemiological multicentre study, *Scand J Gastroenterol* 1981; 16: 305–312.
20. Riela A, Zinsmeister AR, Melton LJ. Increasing incidence of pancreatic cancer among women in Olmsted County, Minnesota, 1940 through 1988, *Mayo Clinic Proceedings* 1992; 67: 839–845
21. Robles-Diaz G, Vargas F, Uscanga L. Chronic pancreatitis in Mexico City, *Pancreas* 1990; 5: 479–483.
22. Levy P, Barthet M, Mollard BR, Amouretti M, Marion-Audibert AM, Dyard F. Estimation of the prevalence and incidence of chronic pancreatitis and its complications. *Gastroenterol Clin Biol* 2006; 30: 838–844.
23. Otsuki M. Chronic pancreatitis in Japan: epidemiology, prognosis, diagnostic criteria, and future problems. *J Gastroenterol* 2003; 38: 315–326.
24. Garg PK, Tandon RK. Survey on chronic pancreatitis in the Asia–Pacific region. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 998–1004.

25. Tinto A, Lloyd DA, Kang, JY. Acute and chronic pancreatitis disease on the rise: A study of hospital admissions in England in 1989/90-1999/2000, *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 2097-2105.
26. Layer P, Yamamoto H, Kalthoff L, Clain JE, Bakken LJ, Di Magno EP. The different courses of early and late-onset idiopathic and alcoholic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1994; 107: 1481–1487.
27. Braganza JM. Evolution of pancreatitis. In: Braganza JM, (ed). *The pathogenesis of pancreatitis*. Manchester: Manchester University Press, 1991: 19–33.
28. Gaisano HY, Gorelick FS. New insights into the mechanisms of pancreatitis. *Gastroenterology* 2009; 136: 2040–2044.
29. Braganza JM. Towards a novel treatment strategy for acute pancreatitis: 1: reappraisal of the evidence on aetiology. *Digestion* 2001; 63: 69–91.
30. Sarles H. Etiopathogenesis and definition of chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1986; 11: 91–107.
31. Braganza JM. The pancreas. *Recent Adv Gastroenterol* 1986; 6: 251–280.
32. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819–1828.
33. Graf R, Schiesser M, Reding T. Exocrine meets endocrine: pancreatic stone protein and regenerating protein—two sides of the same coin. *J Surg Res* 2006; 133: 113–120.
34. Rinderknecht H. Pancreatic secretory enzymes. Go VLW, DiMagno EP, Gardner JD, Lebenthal E, Reber HA, Scheele GA, (eds). *The pancreas. Biology, pathobiology, and disease*. 2nd edition. New York: Raven Press 1993: 219–252.
35. Syrota A, Dop-Ngassa M, Paraf A. 11C-L-methionine for evaluation of pancreatic exocrine function. *Gut* 1981; 22: 907–915.
36. Kloppel G. Chronic pancreatitis, pseudo tumors and other tumor-like lesions. *Mod Pathol* 2007; 20: 113–131.
37. Lieb JG, Forsmark CE. Pain and chronic pancreatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 706–719.

38. Foster JR, Idle JR, Hardwick JP, Bars R, Scott P, Braganza JM. Induction of drug-metabolising enzymes in human pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *J Pathol* 1993; 169: 457–463.
39. Wacke R, Kirchner A, Prail F. Up-regulation of cytochrome P450 1A2, 2C9 and 2E1 in chronic pancreatitis. *Pancreas* 1998; 16: 521–528.
40. Standop J, Schneider M, Ulrich A, Buchler MW, Pour PM. Differences in immunohistochemical expression of xenobiotic-metabolizing enzymes between normal pancreas, chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Toxicol Pathol* 2003; 31: 506–513.
41. Braganza JM, Dormandy TL. Micronutrient therapy for chronic pancreatitis: rationale and impact. *JOP* 2010; 11: 99–112.
42. Foster JR. Toxicology of the exocrine pancreas. In: Ballantyne B, Marrs T, Syversen T (eds). *General and Applied Toxicology*, 3rd edn. Chichester: John Wiley and Sons 2009: 1411–1455.
43. Braganza JM. A framework for the aetiology of chronic pancreatitis. *Digestion* 1998; 58: 1–12.
44. Shimizu K. Mechanisms of pancreatic fibrosis and applications to the treatment of chronic pancreatitis. *J Gastroenterol* 2008; 43: 823–832.
45. Casini A, Galli A, Pignatelli P. Collagen type 1 synthesised by pancreatic periacinar stellate cells (PSC) co-localizes with lipid peroxidation-derived aldehydes in chronic alcoholic pancreatitis. *J Pathol* 2000; 192: 81–89.
46. Lindstedt KA, Wang Y, Shiota N. Activation of paracrine TGF- β 1 signaling upon stimulation and degranulation of rat serosal mast cells: a novel function for chymase. *FASEB J* 2001; 15: 1377–1388.
47. Zimnoch L, Szynaka B, Puchalski Z. Mast cells and pancreatic stellate cells in chronic pancreatitis with differently intensified fibrosis. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 1135–1138.
48. Stevens T, Conwell DL, Zuccaro G. Pathogenesis of chronic pancreatitis: an evidence-based review of past theories and recent developments. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2256–2270.

49. Buchler MW, Martigone ME, Friess H, Malfertheiner P. A proposal for a new clinical classification of chronic pancreatitis. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 93
50. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science* 2002; 296: 1634-1635
51. Gulcubuk A, Altunatmaz K, Sonmez K, Haktanir-Yatkin D, Uzun H, Gurel A, Aydin S. Effects of curcumin on tumour necrosis factor- α and interleukin-6 in the late phase of experimental acute pancreatitis. *J Vet Med A* 2006; 53: 49-54.
52. Shimizu K, Shiratori K, Hayashi N, Kobayashi M, Fujiwara T, Horikoshi H. Thiazolidinedione derivatives as novel therapeutic agents to prevent the development of chronic pancreatitis. *Pancreas* 2002; 24: 184-190.
53. Damas P, Canivet JL, de Groot D. Sepsis and serum cytokine concentrations. *Crit Care Med* 1997; 25: 405-412.
54. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J* 2003; 374: 1–20
55. Vardanyan M, Melemedjian OK, Price TJ. Reversal of pancreatitis-induced pain by an orally available, small molecule interleukin-6 receptor antagonist. *Pain* 2010; 151: 257-265.
56. Hou XJ, Jin ZD, Jiang F, Zhu JW, Li ZS. Expression of Smad7 and Smad ubiquitin regulatory factor 2 in a Rat Model of Chronic Pancreatitis. *J Dig Dis* 2015 [Epub ahead of print]
57. Lawrence T. The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: 1651
58. Hoesel H, schmidt J. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer. *Molecular Cancer* 2013; 12: 86.
59. Liu HS, Pan CE, Liu Qg, Yang W, Liu XM. Effect of NF- κ B and p38 MAPK in activated monocytes/macrophages on pro-inflammatory cytokines of rats with acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2513-2518.

60. Sah RP, Dudeja V, Dawra RK. Cerulein-induced chronic pancreatitis does not require intra-acinar activation of trypsinogen in mice. *Gastroenterology* 2013;144: 1076–1085.
61. Wagner ACC. Serological tests to diagnose chronic pancreatitis. In: Buchler MW, Friess H, Uhl W, Malfertheiner P, (eds). *Chronic pancreatitis: novel concepts in biology and therapy*. London: Blackwell 2002: 217–222.
62. Frulloni L, Gabrielli A, Pezzilli R. Chronic pancreatitis: report from a multicenter Italian survey (PanCronfAISP) on 893 patients. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 311–317.
63. Witt H, Apte MV, Keim V, Wilson JS. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy. *Gastroenterology* 2007; 132: 1557–1573.
64. Pandol SJ, Rarity M. Pathobiology of alcoholic pancreatitis. *Pancreatology* 2007; 7: 105–114.
65. Li J, Guo M, Liu R, Wang R, Tang C. Does chronic ethanol intake cause chronic pancreatitis? evidence and mechanism. *Pancreas* 2008; 37: 189–195
66. Dufour MC, Adamson MD. The epidemiology of alcohol-induced pancreatitis. *Pancreas* 2003; 27: 286–290.
67. Lieber CS. The discovery of the microsomal ethanol oxidizing system and its physiological and pathological role. *Drug Metab Rev* 2004; 36: 511–512.
68. Gonzalez FJ. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1. *Mutat Res* 2005; 569: 101–110.
69. Yadav D, Whitcomb DC. The role of alcohol and smoking in pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 131–145.
70. Wittel UA, Hopt UT, Batra SK. Cigarette smoke-induced pancreatic damage: experimental data. *Langenbecks Arch Surg* 2008; 393: 581–588.
71. Hao J-Y, Li G, Pang B. Evidence for cigarette smoke-induced oxidative stress in the rat pancreas. *Inhalation Toxicol* 2009; 21: 1007–1012.
72. McNamee R, Braganza JM, Hogg J, Leck I, Rose P, Cherry N. Occupational exposure to hydrocarbons and chronic pancreatitis: a case-referent study. *Occup Environ Med* 1994; 51: 631–637.

73. Braganza JM, John S, Padmayalam I. Xenobiotics and tropical pancreatitis. *Int J Pancreatol* 1990; 7: 231–245.
74. Jeppe CY, Smith MD. Transversal descriptive study of xenobiotic exposures in patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *JOP* 2008; 9: 235–239.
75. Merkord J, Weber H, Jonas L, Nizze H, Henninghausen G. The influence of ethanol on long-term effects of dibutyltin dichloride (DBTC) in pancreas and liver of rats. *Hum Exp Toxicol* 1998; 17: 144–150.
76. Merkord J, Jonas L, Weber H, Kroning G, Nizze H, Hennighausen G. Acute interstitial pancreatitis in rats induced by dibutyltin dichloride (DBTC): pathogenesis and natural course of lesions. *Pancreas* 1997; 15: 392–401.
77. Garg PK, Tandon RK. Survey on chronic pancreatitis in the Asia–Pacific region. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 998–1004.
78. Balakrishnan V. Tropical pancreatitis—epidemiology, pathogenesis and aetiology. Balakrishnan V (ed). *Chronic pancreatitis in India*. Trivandrum: St Joseph’s Press, 1987: 81–85.
79. Balakrishnan V, Unnikrishnan AG, Thomas V. Chronic pancreatitis: a prospective nationwide study of 1086 subjects from India. *JOP* 2008; 9: 593–600.
80. Steven FS, Al-Habib A. Inhibition of trypsin and chymotrypsin by thiols. *Biochim Biophys Acta* 1979; 568: 408–415.
81. Halangk W, Kruger B, Ruthenburger M. Trypsin activity is not involved in premature, intrapancreatic trypsinogen activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: 367–374.
82. Chen JM, Ferec C. Chronic pancreatitis: genetics and pathogenesis. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2009; 10: 63–87.
83. Ooi CY, Gonska T, Durie PR, Freedman SD. Genetic testing in pancreatitis. *Gastroenterology* 2010; 138: 2202–2206.
84. Mahurkar S, Nageshwar Reddy D, Rao GV, Chandak GR. Genetic mechanisms underlying the pathogenesis of tropical calcific pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2009; 21: 256–269.

85. Rebours V, Boutron-Ruault M-C, Jooste V. Mortality rate and risk factors in patients with hereditary pancreatitis: uni- and multidimensional analyses. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2312–2317.
86. Ko SB, Mizumo N, Yatabe Y. Corticosteroids correct aberrant CFTR localization in the duct and regenerate acinar cells in autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology* 2010; 138: 1988–1996.
87. Pezzilli R. Etiology of chronic pancreatitis: has it changed in the last decade? *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4737–4740.
88. Park DH, Kim MH, Chari S. Recent advances in autoimmune pancreatitis. *Gut* 2009; 58: 1680–1689.
89. Jin CX, Hayakawa T, Kitagawa M, Ishiguro H. Lactoferrin in chronic pancreatitis. *JOP* 2009; 10: 237–241.
90. Frulloni L, Lunardi C, Simone R. Identification of a novel antibody associated with autoimmune pancreatitis. *N Engl J Med* 2010; 361: 2135–2142.
91. Ramamoorthy S, Nawaz Z. E6-associated protein is a dual function coactivator of steroid hormone receptors. *Nucl Recept Signal* 2008; 6: 1-9.
92. Sah RP, Chari ST, Pannala R. Differences in clinical profile and relapse rate of type 1 versus type 2 autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology* 2010; 139: 140–148.
93. Forsmark CE. Management of chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2013; 144: 1282-1291.
94. Ammann RW. Diagnosis and management of chronic pancreatitis: Current knowledge. *Swiss Med Wkly* 2006; 136: 166–174.
95. Bornman PC, Girdwood AH, Marks IN, Hatfield ARW, Kottler RE. The influence of continued alcohol intake, pancreatic duct hold-up, and pancreatic insufficiency on the pain pattern in chronic noncalcific and calcific pancreatitis: a comparative study. *Surg Gastroenterol* 1982; 1: 5–9.
96. Gardner TB, Kennedy AT, Gelrud A. Chronic pancreatitis and its effect on employment and health care experience: results of a prospective American multicenter study. *Pancreas* 2010; 39: 498–501.

97. Hoogerwerf WA, Gondesen K, Xiao SY, Winston JH, Willis WD, Pasricha PJ. The role of mast cells in the pathogenesis of pain in chronic pancreatitis. *BMC Gastroenterol* 2005; 5: 8.
98. Bornman PC, Girdwood AH, Marks IN, Hatfield ARW, Kottler RE. The influence of continued alcohol intake, pancreatic duct hold-up, and pancreatic insufficiency on the pain pattern in chronic noncalcific and calcific pancreatitis: a comparative study. *Surg Gastroenterol* 1982; 1: 5–9.
99. Barman KK, Premalatha G, Mohan V. Tropical chronic pancreatitis. *Postgrad Med J* 2003; 79: 606–615.
100. Kloppel G, Detlefsen S, Feyerabend B. Fibrosis of the pancreas: the initial tissue damage and the resulting pattern. *Virchows Arch* 2004; 445: 1–8.
101. Ammann RW, Heitz PU, Kloppel G. Course of alcoholic chronic pancreatitis: a prospective clinicomorphological long-term study. *Gastroenterology* 1996; 111: 224–231.
102. Stevens T. Update on the role of endoscopic ultrasound in chronic pancreatitis. *Curr Gastroenterol Rep* 2011;13: 117–122.
103. Kloppel G, Maillet B. The morphological basis for the evolution of acute pancreatitis into chronic pancreatitis. *Virchows Arch Pathol Anat* 1992; 420: 1–4.
104. Kloppel G. Pseudocysts and other non-neoplastic cysts of the pancreas. *Semin Diagn Pathol* 2000; 17: 7–15.
105. Howard JM, Nedwich A. Correlation of the histologic observations and operative findings in patients with chronic pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 1971; 132: 387–395.
106. Bockman DE, Boydston WR, Anderson MC. Origin of tubular complexes in human chronic pancreatitis. *Am J Surg* 1982; 144: 243–249.
107. Friess H, Yamanaka Y, Buchler M. Increased expression of acidic and basic fibroblast growth factors in chronic pancreatitis. *Am J Pathol* 1994; 144: 117–128.
108. Ebert M, Kasper HU, Hernberg S. Overexpression of platelet-derived growth factor (PDGF) B chain and type b PDGF receptor in human chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 567–574.

109. Konzen KM, Perrault J, Moir C. Long-term follow-up of young patients with chronic hereditary or idiopathic pancreatitis. *Mayo Clin Proc* 1993; 68: 449–453.
110. Sahin P, Pozsa'r J, Simon K. Autoimmune pancreatitis associated with immune-mediated inflammation of the papilla of Vater. Report on two cases. *Pancreas* 2004; 29: 162–166.
111. Abraham SC, Leach S, Yeo CJ. Eosinophilic pancreatitis and increased eosinophils in the pancreas. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 334–342.
112. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311–322.
113. Habashi S, Draganov PV. Pancreatic pseudocyst. *World Journal of Gastroenterology* 2009; 15: 38–47.
114. Bresler L, Boissel P, Grosdidier J. Major hemorrhage from pseudocysts and pseudoaneurysms caused by chronic pancreatitis: surgical therapy. *World J Surg* 1991; 15: 649–652.
115. Yeo CJ, Bastidas JA, Lynch-Nyhan A, Fishman EK, Zinner MJ, Cameron JL. The natural history of pancreatic pseudocysts documented by computed tomography. *Surg Gynecol Obstet* 1990; 170: 411–417.
116. Kiviluoto T, Kivisaari L, Kivilaakso E, Lempinen M. Pseudocysts in chronic pancreatitis. Surgical results in 102 consecutive patients. *Arch Surg* 1989; 124: 240–243.
117. Stroud WH, Cullom JW, Anderson MC. Hemorrhagic complications of severe pancreatitis. *Surgery* 1981; 90: 657–665.
118. Eckhauser FE, Stanley JC, Zelenock GB, Borlaza GS, Freier DT, Lindenauer SM. Gastroduodenal and pancreaticoduodenal artery aneurysms: a complication of pancreatitis causing spontaneous gastrointestinal hemorrhage. *Surgery* 1980; 88: 335–344.
119. Udd M, Leppäniemi AK, Bidel S, Keto P, Roth WD, Haapiainen RK. Treatment of bleeding pseudoaneurysms in patients with chronic pancreatitis. *World J Surg* 2007; 31: 504–510.

120. Balachandra S, Siriwardena AK. Systematic appraisal of the management of the major vascular complications of pancreatitis. *Am J Surg* 2005; 190: 489–495.
121. Yasuda T, Kamei K, Araki M. Ekstarperitoneal Fluid collection due to chronic pancreatitis. *Case Rep Gastroenteroloji* 2013; 7: 322-326.
122. Lareo J, Gea F, Abreu C, Barrios A, Garrido A, Albillos C. Isolated splenic vein thrombosis. *J Clin Nutr Gastroenterol* 1986; 1: 221-224.
123. Sutton JP, Yarborough DY, Richards JT. Isolated splenic vein occlusion. *Arch Surg* 1970; 100: 623-630.
124. Belli AM, Jennings CM, Nakienly RA. Splenic and portal venous thrombosis: a vascular complication of pancreatic disease demonstrated on computer tomography. *Clin Radiol* 1990; 41: 13-16.
125. Lilemce KD, Yeo CJ Management of complications of pancreatitis. *Curr Probl Surg*. 1998; 35: 1-98.
126. Madsen MS, Peterson TH, Sommer H. Segmental portal hypertention. *Ann Surg* 1986; 204: 72-77.
127. Moosa AR, Gadd MA. Isolated splenic vein thrombosis *World J Surg* 1985; 9: 384-390.
128. Little AG, Moosa AR. Gastrointestinal haemorrhage from left-sided portal hypertension. *Arch Surg* 1981; 141: 153-157.
129. Hider RT, Azeem SA, Galanko JA, Behrns KE. Natural history of pancreatitis-induced splenic vein thrombosis. *Am J Surg* 2004; 239: 876-882.
130. Butler JR, Eckert GJ, Zyromski NJ, Leonardi MJ, Lillemoe KD, Howard TJ. Natural history of pancreatitis-induced splenic vein thrombosis: a systematic review and meta-analysis of its incidence and rate of gastrointestinal bleeding. *HPB* 2011; 13: 839-845.
131. Choudhuri G, Lakshmi CP, Goel A. Pancreatic diabetes. *Trop Gastroenterol*. 2009; 30: 71-75.
132. Ewald N, Hardt PD. Diagnosis and treatment of diabetes mellitus in chronic pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2013; 19: 7276-7281.

133. Ghio E, Porta M. Diabetes secondary to endocrine and pancreatic disorders. *Front Diabetes* 2014; 22: 119-143.
134. Raimondi S, Lowenfels AB, Morselli-Labate AM, Maisonneuve P, Pezzilli R. Pancreatic cancer in chronic pancreatitis; aetiology, incidence, and early detection, Best Practice and Research. *Clinical Gastroenterology* 2010; 24: 349–358.
135. Kalghatgi PS, Saraf V. Pancreatic cancer in chronic pancreatitis. *Indian J Surg Oncol* 2015; 14: 373-379.
136. A.V Pinho, L Chantrell, I Rooman. Chronic pancreatitis: A path to pancreatic cancer. *Cancer Letters* 2014: 345; 203-209.
137. Lowenfels AB, Maisonneuve P. Defining the role of smoking in chronic pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 196-197.
138. Olesen SS, Bouwense SA, Wilder-Smith OH. Pregabalin reduces pain in patients with chronic pancreatitis in a randomized, controlled trial. *Gastroenterology* 2011; 141: 536-543.
139. Winstead NS, Wilcox CM. Clinical trials of pancreatic enzyme replacement for painful chronic pancreatitis—a review. *Pancreatology* 2009; 9: 344–350.
140. Siriwardena AK, Mason JM, Sheen AJ. Antioxidant therapy does not reduce pain in patients with chronic pancreatitis: the ANTICIPATE study. *Gastroenterology* 2012; 143: 655–663.
141. Bhardwaj P, Garg PK, Maulik SK. A randomized controlled trial of antioxidant supplementation for pain relief in patients with chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2009; 136: 149–159.
142. Rosch T, Daniel S, Sholz M. Endoscopic treatment of chronic pancreatitis: a multicenter study of 1000 patients with long-term follow-up. *Endoscopy* 2002; 34: 765–771.
143. Dite P, Ruzicka M, Zboril V. A prospective, randomized trial comparing endoscopic and surgical therapy for chronic pancreatitis. *Endoscopy* 2003; 35: 553–558.
144. McCloy RF. Chronic pancreatitis at Manchester, UK. Focus on antioxidant therapy. *Digestion* 1998; 59: 36–48.

145. Shah NS, Makin AJ, Sheen AJ, Siriwardena AK. Quality of life assessment in patients with chronic pancreatitis receiving antioxidant therapy. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4066–4071.
146. Boirie Y, Dangin M, Gachon P, Vasson MP, Maubois JL. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14930-14935.
147. Tsutsumi R, Tsutsumi YM. Peptides and proteins in whey and their benefits for human health. *Austin J Nutri Food Sci* 2014; 1: 1002.
148. Aydin S. Presence of adropin, nesfatin-1, apelin-12, ghrelins and salusins peptides in the milk, cheese whey and plasma of dairy cows. *Peptides* 2013; 43: 83-87.
149. Marshall K. Therapeutic applications of whey protein. *Altern Med Rev* 2004; 9: 136-156.
150. Le Maux S, Giblin L, Croguennec T, Bouhallab S, Brodkorb A. β -Lactoglobulin as a molecular carrier of linoleate: characterization and effects on intestinal epithelial cells in vitro. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 9476-9483.
151. Mehraban MH, Yousefi R, Taheri-Kafrani A, Panahi F, Khalafi-Nezhad A. Binding study of novel anti-diabetic pyrimidine fused heterocycles to β -lactoglobulin as a carrier protein. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2013; 112: 374-379.
152. Caccavo D, Pellegrino NM, Altamura M, Rigon A, Amati L. Antimicrobial and immunoregulatory functions of lactoferrin and its potential therapeutic application. *J Endotoxin Res* 2002; 8: 403-417.
153. McGregor RA, Poppitt SD. Milk protein for improved metabolic health: a review of the evidence. *Nutr Metab (Lond)* 2013; 10: 46.
154. Miyauchi H, Hashimoto S, Nakajima M, Shinoda I, Fukuwatari Y, Hayasawa H. Bovine lactoferrin stimulates the phagocytic activity of human neutrophils: identification of its active domain. *Cell Immunol* 1998; 187: 34-37.
155. Brix S, Bovetto L, Fritsche R, Barkholt V, Frokiaer H. Immunostimulatory potential of beta-lactoglobulin preparations: Effects caused by endotoxin contamination. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003; 112: 1216-1222.

156. Kulczycki A Jr, MacDermott RP. Bovine IgG and human immune responses: Con A-induced mitogenesis of human mononuclear cells is suppressed by bovine IgG. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1985; 77: 255-258.
157. Yolken RH, Losonsky GA, Vonderfecht S, Leister F, Wee SB. Antibody to human rotavirus in cow's milk. *N Engl J Med* 1985; 312: 605-610.
158. Björck L. Antibacterial effect of the lactoperoxidase system on psychotropic bacteria in milk. *J Dairy Res* 1978; 45: 109-118.
159. Bland JS. CNS: functional medicine pioneer. *Altern Ther Health Med* 2004; 10: 74-81.
160. Larson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 1988; 27: 969-978.
161. Beaulieu J, Dupont C, Lemieux P. Anti-inflammatory potential of a malleable matrix composed of fermented whey proteins and lactic acid bacteria in an atopic dermatitis model. *Journal of Inflammation* 2007; 4: 6-15.
162. Bounous G, Kongshavn PA: Differential effect of dietary protein type on the B-cell and T-cell immune responses in mice. *J Nutr* 1985; 115: 1403-1408.
163. Mortensen LS, Hartvigsen ML, Brader LJ, Astrup A, Schrezenmeir J. Differential effects of protein quality on postprandial lipemia in response to a fat-rich meal in type 2 diabetes: comparison of whey, casein, gluten, and cod protein. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 41-48.
164. Pal S, Ellis V, Dhaliwal S. Effects of whey protein isolate on body composition, lipids, insulin and glucose in overweight and obese individuals. *Br J Nutr* 2010; 104: 716-723.
165. Jakubowicz D, Froy O. Biochemical and metabolic mechanisms by which dietary whey protein may combat obesity and Type 2 diabetes. *J Nutr Biochem*. 2013; 24: 1-5.
166. Cooke MB, Rybalka E, Stathis CG, Cribb PJ, Hayes A. Whey protein isolate attenuates strength decline after eccentrically-induced muscle damage in healthy individuals. *J Int Soc Sports Nutr* 2010; 7: 30.

167. Burd NA, West DW, Moore DR, Atherton PJ, Staples AW. Enhanced amino acid sensitivity of myofibrillar protein synthesis persists for up to 24 h after resistance exercise in young men. *J Nutr* 2011; 141: 568-573.
168. Sekine K, Watanabe E, Nakamura J, Takasuka N, Kim DJ. Inhibition of azoxymethane-initiated colon tumor by bovine lactoferrin administration in F344 rats. *Jpn J Cancer Res* 1997; 88: 523-526.
169. Yoo YC, Watanabe S, Watanabe R, Hata K, Shimazaki K. Bovine lactoferrin and lactoferricin inhibit tumor metastasis in mice. *Adv Exp Med Biol* 1998; 443: 285-291.
170. Duarte DC, Nicolau A, Teixeira JA, Rodrigues LR. The effect of bovine milk lactoferrin on human breast cancer cell lines. *J Dairy Sci* 2011; 94: 66-76.
171. Watanabe A, Okada K, Shimizu Y, Wakabayashi H, Higuchi K. Nutritional therapy of chronic hepatitis by whey protein (non-heated). *J Med* 2000; 31: 283-302.
172. Kume H, Okazaki K, Sasaki H. Hepatoprotective effects of whey protein on D-galactosamine induced hepatitis and liver fibrosis in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 2006; 70: 1281-1285.
173. Jobara K, Kaido T, Hori T, Iwaisako K, Endo K, Uchida Y, Uemoto S. Whey-hydrolyzed peptide-enriched immunomodulating diet prevents progression of liver cirrhosis in rat. *Nutrition* 2014; 30: 1195-1207.
174. Kawase M, Hashimoto H, Hosoda M, Morita H, Hosono A. Effect of administration of fermented milk containing whey protein concentrate to rats and healthy men on serum lipids and blood pressure. *J Dairy Sci* 2000; 83: 255-263.
175. Martínez-Maqueda D, Miralles B, Recio I, Hernández-Ledesma B. Antihypertensive peptides from food proteins: a review. *Food Funct* 2012; 3: 350-361.
176. Naot D, Grey A, Reid IR, Cornish J. Lactoferrin--a novel bone growth factor. *Clin Med Res* 2005; 3: 93-101.
177. Toba Y, Takada Y, Matsuoka Y, Morita Y, Motouri M. Milk basic protein promotes bone formation and suppresses bone resorption in healthy adult men. *Biosci Biotechnol Biochem* 2001; 65: 1353-1357.

178. Markus CR, Olivier B, Panhuysen GE, Van Der Gugten J, Alles MS. The bovine protein alpha-lactalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to the other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin activity, reduces cortisol concentration, and improves mood under stress. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1536-1544.
179. Markus CR, Olivier B, de Haan EH. Whey protein rich in alpha-lactalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress-vulnerable subjects. *The Am J of Clin Nutr* 2002; 75: 1051-1056.
180. De Moura CS, Lollo PC, Morato PN, Carneiro EM, Amaya-Farfan J. Whey protein hydrolysate enhances the exercise-induced heat shock protein (HSP70) response in rats. *Food Chem* 2013; 136: 1350-1357.
181. O'Dwyer ST, Smith RJ, Hwang TL, Wilmore DW. Maintenance of small bowel mucosa with glutamine-enriched parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1989; 13: 579-585.
182. Zhou CH, Li ML, Qin AL. Reduction in Dibutyltin Dichloride-Induced Chronic Pancreatitis Using Rat Umbilical Mesenchymal Stem Cells From Wharton's Jelly. *Pancreas* 2013; 42: 1291-1302.
183. Karatepe, M., Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC– UV Lcgc North America, 2004. 22: 362-365.
184. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research.* 2001; 29: 2002-2007.
185. Ross MH, Reith EJ, Romrell LJ. *Histology- A Text and Atlas*, Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, 1989.
186. Uden S, Schofield D, Miller PF, Day JP, Bottiglier T, Braganza JM. Antioxidant therapy for recurrent pancreatitis: biochemical profiles in a placebo controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 1992; 6: 229-240.
187. Rustagi T, Niei B. Antioxidant therapy for pain reduction in patients with chronic pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Pancreas* 2015; 44: 812-818.

188. Inoue M, Ino Y, Gibo J, Ito T, Hisano T, Arita Y, Nawata H. The role of monocyte chemoattractant protein-1 in experimental chronic pancreatitis model induced by dibutyltin dichloride in rats. *Pancreas* 2002; 25: 64-70.
189. Robles L, Vaziri ND, Masuda Y. Dimethyl fumarate protects pancreatic islet cells and non-endocrine tissue in L-arginine-induced chronic pancreatitis. *PLoS One* 2014; 9: 107111
190. Masoni L. High whey protein intake delayed the loss of lean body mass in healthy old rats, whereas protein type and polyphenol/antioxidant supplementation had no effects. *PLoS One* 2014; 9: 109098.
191. Haraguchi FK, Magalhaes CL, Neves LX, Dos SANTOS RC, Pedrosa ML, Silva ME. Whey protein modifies gene expression related to protein metabolism affecting muscle weight in resistance-exercised rats. *Nutrition* 2014; 30: 876-881.
192. Merkord J, Weber H, Kröning G, Hennighausen G. Repeated administration of a mild acute toxic dose of di-n-butyltin dichloride at intervals of 3 weeks induces severe lesions in pancreas and liver of rats. *Hum Exp Toxicol* 2001; 20: 386-392.
193. Yoo BM, Oh TY, Kim YB. Novel antioxidant ameliorates the fibrosis and inflammation of cerulein-induced chronic pancreatitis in a mouse model. *Pancreatology* 2005; 5: 165–176.
194. Niina Y, Ito T, Oono T. A sustained prostacyclin analog, ONO-1301, attenuates pancreatic fibrosis in experimental chronic pancreatitis induced by dibutyltin dichloride in rats. *Pancreas* 2014; 43: 201-210.

6. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Kars’ ta doğdum. İlk ve orta öğrenimimi 1991-2002 yılları arasında Elazığ’ da tamamladım. 2002-2009 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi’ nde tıp eğitimimi aldım. 2009-2011 yılları arasında Fırat Üniversitesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı’ nda araştırma görevlisi olarak çalıştım. 2011 yılından bu yana İç Hastalıkları Tıpta Uzmanlık Eğitimimi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı’ nda sürdürmekteyim. Orta düzeyde İngilizce bilmekteyim. Evli ve bir çocuk babasıyım.