



T.C.

ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PANKREAS-SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ İLE
OLUŞTURULAN AKUT PANKREATİT MODELİNDE FERULİK
ASİTİN OLASI ANTIİNFLAMATUVAR ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

SÜMEYYE ÇİLİNGİR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Meltem Kolgazi

İSTANBUL-2018



T.C.

ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PANKREAS-SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ İLE
OLUŞTURULAN AKUT PANKREATİT MODELİNDE FERULİK
ASİTİN OLASI ANTIİNFLAMATUVAR ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

SÜMEYYE ÇİLİNGİR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Meltem Kolgazi

İSTANBUL-2018

Anabilim Dalı: Fizyoloji

Program: Fizyoloji Tezli Yüksek Lisans

Tez Başlığı: Pankreas-Safra Kanalı Bağlama Yöntemi ile Oluşturulan Akut Pankreatit Modelinde Ferulik Asitin Olası Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin Adı-Soyadı: Sümeyye Çilingir

Savunma Sınavı Tarihi: 05 / 07 / 2018

Bu tez çalışması jürimiz tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Güldal Süyen

Acıbadem Mehmet Ali

Aydınlar Üniversitesi

Tıp Fakültesi Fizyoloji AD

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Meltem

Kolgazi

Acıbadem Mehmet Ali

Aydınlar Üniversitesi

Tıp Fakültesi Fizyoloji AD

Üye

Prof. Dr. Berrak Ç. Yeğen

Marmara Üniversitesi

Tıp Fakültesi Fizyoloji AD

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca bu tez yukarıdaki jüri tarafından onaylanmış ve Sağlık Bilimleri Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Uğur Özbek

Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih

Adı Soyadı

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın ve yüksek lisans eğitimimin her aşamasında fikirleri ve tecrübesi ile desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Meltem Kalgazi'ye, gerek eğitimim boyunca gerekse tez sürecinde fikirlerini ve desteğini sunan değerli hocam Prof. Dr. Güldal Süyen'e, tez çalışmasının histolojik değerlendirmeleri için Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Serap Arbak'a, hayvan temini ve teknik destek için ACU Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden Vet. Hek. Samed Özer'e, yüksek lisans eğitimimde desteğini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Mustafa Sekin ve Selma Çat'a, yüksek lisans eğitimimde katkılarından dolayı değerli hocalarım Doç. Dr. Melike Şahiner, Doç. Dr. Hande Yapışlar ve Dr. Öğretim Üyesi Mehmet Ergen'e, tüm eğitimim boyunca, maddi ve manevi her türlü desteğini ve anlayışını esirgemedikleri için aileme teşekkür ederim.

Bu tez Acıbadem Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (2017/01/01 - 2017).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	8
4.1. Pankreasın Yapısı ve Fonksiyonu	8
4.2. Pankreatit	9
4.3. Akut Pankreatit	9
4.3.1. İntraasiner olaylar	11
4.3.1.1. Zimojen aktivasyonu	11
4.3.1.2. Oksidatif stres	13
4.3.2. İnflamatuvar cevaplar	15
4.3.2.1. NF-κB aktivasyonu	15
4.3.2.2. Sitokinlerin rolü	16
4.3.3.Çoklu organ yetmezliği	19
4.4. Kronik Pankreatit	21
4.5. Akut Pankreatit Modelleri	22
4.5.1.Sekretuvar bir ajanla (Serulein) indüklenen pankreatit	22
4.5.2.İmmün aracılı pankreatit	23
4.5.3.Diyet ile indüklenmiş pankreatit	24
4.5.4.Aminoasit ile indüklenmiş pankreatit	25
4.5.5.Safra asit infüzyonu ile indüklenmiş pankreatit	25
4.5.6. Alkol ile indüklenmiş pankreatit	26
4.5.7.Kanal ligasyonu ile indüklenen pankreatit	26
4.6. Ferulik Asit	28
5.GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
5.1. Deney Protokolü ve Grupları	31
5.2. Serumda ALT, AST, ALP, Amilaz, Lipaz, TB Düzeyi Ölçümleri	34
5.3. Serumda TNF-α Düzeyi Ölçümü	34

5.4. Doku Hasarının Değerlendirmesi	34
5.5. Dokuda MPO Ölçümü	35
5.6. Dokuda MDA Düzeyi Ölçümü	36
5.7. Dokuda GSH Düzeyi Tayini	36
5.8. İstatistiksel Analiz	36
6. BULGULAR	37
6.1.Ortalama Ağırlık Takibi	37
6.2. Serumda Pankreatik Amilaz ve Lipaz, ALT, AST, ALP ve TB Düzeyi	38
6.2.1. Pankreatik amilaz düzeyi	38
6.2.2. Pankreatik lipaz düzeyi	39
6.2.3. ALT düzeyi	40
6.2.4. AST düzeyi	41
6.2.5. ALP düzeyi	42
6.2.6. TB düzeyi	43
6.3. Serumda TNF-α Düzeyi Ölçümü	44
6.4. Histolojik Değerlendirilme ve Mikroskopik Skor	45
6.4.1. Pankreas dokusu mikroskopik skor	45
6.4.2. Karaciğer dokusu mikroskopik skor	47
6.4.3. Akciğer dokusu mikroskopik skor	49
6.5. Dokuda MPO Düzeyleri	51
6.5.1 Pankreas dokusu MPO düzeyleri	51
6.5.2. Karaciğer dokusu MPO düzeyleri	52
6.5.3. Akciğer dokusu MPO düzeyleri	53
6.6. Dokuda MDA Düzeylerinin Değerlendirilmesi	54
6.6.1. Pankreas dokusu MDA düzeyleri	54
6.6.2. Karaciğer dokusu MDA düzeyleri	55
6.6.3. Akciğer dokusu MDA düzeyleri	56
6.7. GSH Düzeyinin Değerlendirilmesi	57
6.7.1. Pankreas dokusu GSH düzeyleri	57
6.7.2. Karaciğer dokusu GSH düzeyleri	58
6.7.3. Akciğer dokusu GSH düzeyleri	59
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	60

8. KAYNAKLAR	68
9. EK: ETİK KURUL ONAYI	84
10. ÖZGEÇMİŞ	85



KISALTMA VE SİMGELER

ABD	Amerikan Birleşik Devletleri
ALT	Alanin aminotransferaz
ALP	Alkalen fosfataz
ANOVA	Varyans Analizi
ANP	Akut Nekrotizan Pankreatit
AP	Akut Pankreatit
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
Ca ⁺²	Kalsiyum
CCK	Kolesistokin
CDE	Choline-deficient and ethionine-supplemented
°C	Santigrat derece
DAMPs	Damage-associated molecular pattern
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	Dinitro benzoik asit
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ERCP	Endoskopik retrograd kolanjio-pankreatografi
FA	Ferulik asit (4-hydroxy-3-methoxy cinnamic acid)
FA250	Ferulik asit 250 mg/kg
FA500	Ferulik asit 500 mg/kg
g	Gram
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
HCL	Hidroklorik asit
HEPES	4-(2-hydrosietil)-1-piperazineetanesulfonik asit
HETAB	Heksadesiltrimetilammonyum bromide
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IL-1 β	İnterlökin 1 β
IL-6	İnterlökin 6
IL-8	İnterlökin 8

IκB	İndüklenebilir kappa B
İg	İntragastrik
İp	İntraperitoneal
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
IU	İnternasyonal ünite
kg	Kilogram
K ₂ HPO ₄	Dipotasyum hidrojen fosfat
KP	Kronik pankreatit
L	Litre
LFA-1	Lenfosit fonksiyonu antijen 1
TLR4	Tool benzeri reseptör 4
MCP-1	Monosit kemotaktik protein 1
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol
MPO	Miyeloperoksidaz
mRNA	Haberci ribonükleik asit
Na ⁺¹	Sodyum
NADPH	Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat
NF-κB	Nüklear faktör kappa B
NOD	Nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon domeini içeren protein
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
PBDL	Pancreatico-biliary duct ligation
pH	Hidrojenin gücü (power of hydrogen)
PKC	Protein kinaz C
PSKL	Pankreas safra kanal ligasyonu
ROM	Reaktif oksijen molekülü

SF	Fizyolojik tuzlu su
SOD	Süperoksit dismutaz
TB	Total Bilirubin
TNBS	Trinitrobenzen sülfonik asit
TNF- α	Tümör nekroz faktör alfa
U	Ünite



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 4.1. Pankreasın Yapısı	8
Şekil 4.6.1. FA Kimyasal Yapısı	28
Şekil 5.1.1. Deney Protokolü	32
Şekil 6.1.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında ortalama ağırlık düzeyi	37
Şekil 6.2.1.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında serum amilaz düzeyi	38
Şekil 6.2.2.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında serum lipaz düzeyi	39
Şekil 6.3.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında TNF- α düzeyleri	44
Şekil 6.4.1.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında pankreas mikroskopik skor düzeyleri	45
Şekil 6.4.2.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında karaciğer mikroskopik skor düzeyleri	47
Şekil 6.4.3.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında akciğer mikroskopik skor düzeyleri	49
Şekil 6.5.1.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında pankreas MPO aktivitesi	51
Şekil 6.5.2.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında karaciğer MPO aktivitesi	52
Şekil 6.5.3.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında akciğer MPO aktivitesi	53
Şekil 6.6.1.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında pankreas MDA aktivitesi	54
Şekil 6.6.2.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında karaciğer MDA aktivitesi	55
Şekil 6.6.3.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında akciğer MDA aktivitesi	56
Şekil 6.7.1.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında pankreas GSH düzeyleri	57
Şekil 6.7.2.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında karaciğer GSH düzeyleri	58
Şekil 6.7.3.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında akciğer GSH düzeyleri	59
Şekil 7.1. FA'nın iyileştirici etkisinin özetlenmesi	67

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 6.2.3.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında serum ALT düzeyleri	40
Tablo 6.2.4.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında serum AST düzeyleri	41
Tablo 6.2.5.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında serum ALP düzeyleri	42
Tablo 6.2.6.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında serum TB düzeyleri	43



RESİMLER LİSTESİ

		Sayfa No
Resim 5.1.1.	Pankreas-safra kanal ligasyonu	33
Resim 6.4.1.1.	Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarına ait pankreas kesitinin histolojik görünümü	46
Resim 6.4.2.1.	Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarına ait karaciğer kesitinin histolojik görünümü	48
Resim 6.4.3.1.	Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarına ait akciğer kesitinin histolojik görünümü	50

1.ÖZET

Giriş: Akut pankreatit sindirim enzimlerinin hiperaktivasyonu ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımıyla karakterize sistemik bir inflamasyondur. Ferulik asit (FA) antioksidan bir hidroksisünamik asit türevidir. Araştırmalar antimikrobiyal, antikanserojenik ve antiinflamatuvar etkileri olduğunu göstermiştir. **Amaç:** Çalışmada pankreas-safra kanal ligasyonu (PSKL) ile oluşturulan pankreatit modelinde FA'nın antiinflamatuvar etkileri araştırılmıştır. **Yöntem:** Wistar albino sıçanlar (n=10-12/grup) kullanıldı. Kontrol grubuna taklit cerrahi, pankreatit grubuna ise PSKL uygulanmadan 30dk. önce ve 3 gün boyunca intragastrik (ig) fizyolojik tuzlu su (SF) verildi. PSKL'den 30 dk. önce ve 3 gün boyunca FA250 grubuna 250 mg/kg, FA500 grubuna ig 500 mg/kg FA verildi. 24., 48. ve 72. saatlerde kan örnekleri toplandı ve günlük ağırlıkları kaydedildi. 72. saatte dekapitasyon yapılarak kan, pankreas, akciğer ve karaciğer örnekleri toplandı. Serumda tümör nekroz faktör (TNF)- α , Alkalen fosfataz (ALP), Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST), total bilirubin (TB), amilaz ve lipaz; dokularda miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) düzeyleri ölçüldü. Histolojik inceleme ve mikroskopik hasar skoru yapıldı. İstatistiksel analiz için ANOVA ile Tukey-Kramer ve Student t testi kullanıldı. **Bulgular:** FA tedavisi PSKL ile pankreas, karaciğer ve akciğerde artan MPO düzeyini azalttı ve GSH içeriğini korudu. Aynı zamanda pankreas, akciğer MDA seviyelerini düşürürken; karaciğerde MDA; serumda TNF- α ve ALT, AST, ALP ve TB seviyelerini geri döndürdü. Ayrıca FA tedavisi ile pankreas ve karaciğerde mikroskopik hasarda belirgin bir iyileşme gözlemlendi. **Sonuç:** PSKL ile oluşturulan pankreatitte FA'nın endojen antioksidan içeriği koruduğu, nötrofil infiltrasyonunu ve lipid peroksidasyonu azalttığı dolayısıyla doku düzeyinde antiinflamatuvar bir rol oynayarak iyileşme sağladığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: akut pankreatit, ferulik asit, tıkanma, antioksidan, inflamasyon, sıçan.

2.SUMMARY

Evaluating of The Potential Antiinflammatory Effects of Ferulic Acid on Pancreatico-Biliary Duct Ligation Induced Acute Pancreatitis Model

Introduction: Acute pancreatitis is a systemic inflammation characterized by the hyperactivation of digestion enzymes and releasing of the proinflammatory cytokines. Ferulic acid (FA) is an antioxidant hydroxycinnamic acid derivative. Recently, its antimicrobial, anticancer and antiinflammatory effects have been shown. **Aim:** The antiinflammatory effects of FA was investigated on pancreatico-biliary duct ligation (PBDL) induced pancreatitis model. **Methods:** Wistar albino rats (n=10/group) were used. Control and PBDL groups were given saline 30 minutes before sham operation and PBDL respectively and for 3 days. FA250 group was treated with 250 mg/kg and FA500 group with 500 mg/kg FA ig30 minutes before PBDL and for 3 days. At 72nd hour, all rats were decapitated; blood, pancreas, lung and liver samples were collected. Rats were weighed daily. Serum tumor necrosis factor (TNF)- α , alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin, amylase, lipase; tissue myeloperoxidase (MPO) activity, malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) levels were measured. Histologic examination and microscopic scoring was performed. ANOVA with Tukey-Kramer analysis and Student's t tests were used for statistical analysis. **Results:** FA reduced MPO levels increased with PBDL induction and prevented the depletion of GSH in all tissues. High MDA levels in pancreas and liver; serum TNF- α , ALP, ALT, AST and TB levels decreased with FA treatments. Additionally, microscopic lesion scores of pancreas and liver reduced with FA. **Conclusion:** According to findings FA protects endogen antioxidant content, prevents neutrophil infiltration and decreases lipid peroxidation in PBDL induced pancreatitis. Furthermore, FA improves tissue damage induced by pancreatitis with its antiinflammatory effects.

Anahtar Kelimeler: acute pancreatitis, ferulic acid, obstruction, antioxidant, inflammation, rat.

3.GİRİŞ VE AMAÇ

Akut pankreatit (AP), orta dereceli hayati tehlike yaratan komplikasyonlardan, şiddetli formlara kadar farklı klinik sonuçlara sahip ve ancak destekleyici tedaviler uygulanabilen ciddi bir klinik durumdur. Etiyolojisinde birçok neden olmakla birlikte olguların %80'den fazlasında nedenin safra taşı migrasyonu ya da alkol tüketimi olduğu bildirilmektedir (1). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de yılda 200,000'den fazla akut pankreatit başvurusu olduğu ve başvuruların %38'inin tıkanıklığa bağlı gelişen pankreatit olduğu belirtilmektedir (2). Bakım, görüntüleme ve girişimsel tekniklerdeki gelişmelere rağmen AP belirgin morbidite ve mortaliteyle ilişkili olmaya devam etmekte (3), şiddetli formunda çoklu organ yetmezliği nedeniyle mortalitenin %25'e ulaşabildiği belirtilmektedir (4). Buna rağmen akut pankreatit tedavisi için ancak yüksek maliyetli semptomatik tedaviler uygulanabilmektedir. Tıkanıklığa bağlı akut pankreatit tedavisinde son on yılda cerrahi tedavilerden uzaklaşmış, araştırmacılar alternatif tedavi arayışına yönelmiştir (5). Bu nedenle, AP klinikte cevap aranan önemli bir sorun olmaya devam etmektedir.

AP'nin in vivo hayvan modelleri arasında en sık kullanılanlar serulein ile ya da alkolle indüklenen pankreatit modelleridir. Ancak bu modeller kliniği taklit etmek bakımından çeşitli sınırlılıklara sahiptir (6). Klinikte tıkanmaya bağlı AP %40 civarında görülmesine rağmen mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle tez çalışmada pankreas-safra kanalının bağlanmasıyla oluşturulan pankreatit modeli kullanılması ve tıkanıklığa bağlı AP oluşum mekanizmasının incelenmesi literatüre önemli bir katkı sunacaktır. Bu katkı aynı zamanda AP için tedavi seçeneklerinin tartışılmasına da olanak sağlayacaktır.

AP'nin mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla beraber, pankreatik kanalın tıkanması ve asiner aşırı uyarılmanın birçok farklı AP formunun patogenezinde esas rol oynadığı (6), AP'nin zimojenlerin özellikle tripsinojenin asiner hücre içerisinde aktive olmasından kaynaklandığı birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir (7).

AP gelişiminde; safra taşı, kanal bağlama ya da kanal obstrüksiyonuna neden olan olaylar, tripsinojenin asiner ekzositozunu engelleyerek intraduktal basıncı artırmaktadır. Bununla beraber tıkanıklık Ca^{+2} sinyal değişikliklerine sebep olmakta, bu değişiklikler tripsinojeni tripsine aktive eden katepsin B gibi lizozomal hidrolazları uyararak tripsinojen ve aynı bölgedeki zimojenlerin intraasiner aktivasyonuna neden olmaktadır (8, 9).

Tripsinin intraasiner aktivasyonunun altında yatan mekanizma ve nötrofillerin bu mekanizmadaki rolü henüz net değildir. Nötrofil akümülyasyonu ve tripsin aktivasyonunun AP'de önemli rol oynadığı kabul edilmesine rağmen, aralarındaki ilişki pankreas çalışmalarında hala çözülememiş bir konudur. AP'deki doku hasarında nötrofillerin kritik rol oynadığına ilişkin güçlü bulgular elde edilmiştir. Tripsinojen aktivasyonunun AP başlangıcında nötrofilden bağımsız gerçekleştiği, fakat daha sonra aktivasyonun pankreastaki nötrofillere bağlı olabileceği/sürebileceği ileri sürülmektedir (10). Fakat nötrofiller ile tripsin aktivasyonu arasındaki moleküler mekanizmaların henüz tam olarak aydınlatılmamış olması nedeniyle nötrofillerin pankreatit patogenezindeki rolü halen tartışılmaya devam etmektedir. Nötrofil infiltrasyonunun ve sitokin cevabının azalmasının sıçanda pankreas-safra kanalının tıkanıklığına bağlı pankreatit modelinde iyileştirici etkileri olduğu gösterilmiştir (11). Ayrıca, serulein ile indüklenen pankreatit modelinde sıçanlara uygulanan antinötrofil serumunun dolaşımdaki nötrofillerin temizlenmesine bağlı olarak pankreasta ve asiner hücrelerde tripsin aktivasyonunu belirgin şekilde azalttığı gösterilmiştir (12). Ancak başka bir çalışmada, dolaşımdaki nötrofillerin yüzeyinde bulunan ve pankreasa infiltrasyonunda ve yapışmasında rol oynayan lenfosit fonksiyonu antijen-1 (LFA-1) gen eksikliği olan farelerde, taurokolat ile indüklenen tripsin aktivasyonunun değişmediği gösterilmiştir (13). Yapılan başka bir çalışmada ise, tripsinojen hiperaktivasyonuna rağmen toll benzeri reseptör 4 (TLR4)'ün nötrofil aracılığı ile akut pankreatit gelişiminde rolü olduğu gösterilmiştir (14). Dolayısıyla, hem araştırmaların çelişkili sonuçları hem de nötrofilleri ya da fonksiyonlarını tamamen ortadan kaldıracak spesifik genetik araçların henüz geliştirilememesi, AP'de nötrofil infiltrasyonu ile tripsinojen aktivasyonu arasındaki doğrudan ilişkinin halen tartışma konusu olmasına neden olmaktadır (12).

AP ile ilişkili olarak nötrofillerin rolü ile birlikte inflamatuvar yanıtta oksidatif stresin rolüne dair de çok sayıda çalışma vardır. Oksidatif stresin, AP'nin patogeneğinde önemli rol oynadığı ve reaktif oksijen moleküllerinin doku hasarı ve inflamatuvar hücrelerin bölgeye toplanması gibi inflamatuvar kaskatların aktivasyonunu regüle ettiği ifade edilmektedir. Oksidatif stresin bir sonucu olarak, antiproteaz ve antioksidan aktivite bozulabilmekte ve ciddi doku hasarı meydana gelebilmektedir. Yapılan çalışmalarda da gösterildiği gibi, dokuda ve plazmada artan oksidan seviyesi, oksidatif stresin AP'de, hem lokal hem de sistemik cevaplarda yer aldığını ifade etmektedir (15).

Yapılan klinik öncesi ve klinik değerlendirmelerde, AP'nin patofizyolojisinde oksidatif stresin oksidan düzeylerini artırdığı, antioksidan savunmayı azalttığı gösterilmiştir. Yapılan antioksidan tedavinin AP belirtilerini hafifletebilir veya pankreatit gelişimini önleyebilir olduğu iddia edilmiştir (15).

Birçok deneysel model ve yaklaşımlarla, AP'nin patogeneğinde oksidatif stresin rolü araştırılmakla beraber, yapılan çalışmaların en belirgin dezavantajı antioksidanların hastalığın tedavisinden ziyade AP oluşumundan önce ön tedavi olarak uygulanmasıdır (16). Ayrıca, yapılan bir meta-analizde, antioksidan tedavilerin bir takım hastalıkların sonucunu iyileştirmediği ifade edilmektedir (17). Dolayısıyla, klinikte yapılan antioksidan tedavinin etkinliğinin netlik kazanamaması AP'nin gelişiminde oksidatif stresin rolü hakkında fikir birliği oluşmasına engel olmaktadır (16).

Klinik çalışmalar, oksidatif stresin bir sonucu olarak, AP'li hastaların serumlarında interlökin (IL)-1 β , IL-6 ve tümör nekroz faktör (TNF)- α gibi inflamatuvar sitokinlerin varlığını ortaya koymuş, pankreatitli hastaların nükleer faktör kappa B (NF- κ B) aktivitesinde artış olduğunu göstermiştir (18). Pankreatik asiner hücrelerinden salgılanan sitokinlerin nötrofil ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerin de bölgeye toplanmasına yol açtığı bildirilmiştir (19). Bununla beraber asiner hücre kaynaklı proteazların aktivasyonu ve otosindirimi de lokal cevaba ve buna bağlı sistemik inflamatuvar cevabın oluşmasına neden olmaktadır.

Tripsinojen ve NF-κB aktivasyonu arasındaki ilişki ile ilgili çeşitli iddialar bulunmaktadır. Bir çalışmada, spesifik olmayan proteaz inhibitörlerinin in vitroda NF-κB aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiş ve bu nedenle tripsinojen aktivasyonu için NF-κB aktivasyonunun hayati olduğu sonucuna varılmıştır (20). Diğer taraftan, in vitro asiner hücrelerdeki aktif tripsinin adenoviral aracılı ekspresyonunun, NF-κB aktivasyonuna neden olmadığı (21) da gösterilmiş, yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda, tripsinojen geni eksik farelerde NF-κB aktivasyonunun varlığı gösterilmiştir (22). Bu da NF-κB aktivasyonunun, pankreatit sırasında tripsinojenin aktivasyonundan bağımsız olup olmadığını tartışmaya açık olduğunu göstermektedir.

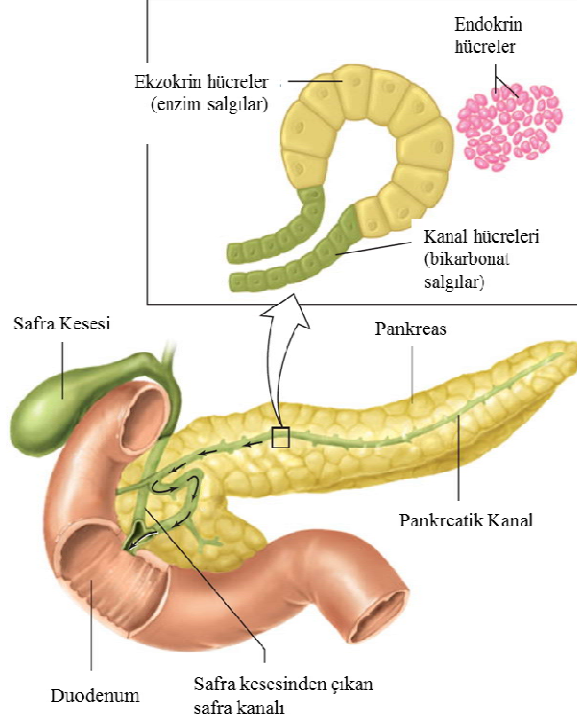
Ferulik asit (FA); çeşitli meyve, sebze ve tahıllarda bulunan bir fitokimyasaldır. Yakın zamanda antioksidan, antiinflamatuvar, antikanserojenik ve nöroprotektif etkileri olduğu bildirilmiştir (23). H₂O₂ ile indüklenmiş inflamasyon modelinde reaktif oksijen moleküllerinin (ROM) üretimini ve hücre apoptozunu azalttığı ve hücre proliferasyonunu indüklediği, nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz aktivasyonunu inhibe ederek ROM üretimini azalttığı, NF-κB aktivasyonunu inhibe ederek indüklenebilir nitrikoksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu ve IL-1β, IL-6, TNF-α düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir (23). Yapılan başka bir çalışmada ise sepsisle indüklenmiş sıçanlarda FA tedavisinin malondialdehit (MDA) düzeylerinde anlamlı bir azalmaya, glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ve GSH peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitelerinde belirgin bir artışa neden olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca karaciğer, böbrek dokularında ve lenfositlerdeki deoksiribonükleik asit (DNA) hasarını anlamlı bir şekilde azalttığı ve böylece sepsisle indüklenmiş oksidatif hasarı önlemede etkili olduğu gösterilmiştir (24). Yine sıçan kolit modelinde, miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesini, mukozal epitel hasarını, ülserasyonu ve submukozal ödemi anlamlı bir şekilde azalttığı, TNF-α, IL-1β, IL-6 ve kolonik haberci ribonükleik asit (mRNA) ekspresyon düzeylerini regule ettiği ve bu immünomodülatör etkisinin intestinal inflamasyona karşı yararlı olabileceği ileri sürülmüştür (25).

Bu bilgiler ışığında FA'nın sıçan pankreatit modelinde de özellikle antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri üzerinden AP'de yararlı etkileri olabileceği düşünülmüştür. FA'nın AP modelinde nötrofil infiltrasyonu, MPO ve sitokin üretimine etkilerinin araştırılması hem maddenin yararlı etkileri, hem de obstrüksiyona bağlı pankreatitin mekanizması hakkında daha fazla bilgi edinilmesini sağlayacaktır.



4.GENEL BİLGİLER

4.1. Pankreasın Yapısı ve Fonksiyonu



Şekil 4.1: Pankreasın Yapısı (26)

Pankreas, midenin arkasında ve altında bulunan, duodenumun ilk lobunun üzerine doğru uzanan ince uzun bir bezdir. Hem endokrin hem de ekzokrin bölümler içermektedir. Ekzokrin kısım, sonunda duodenum içine boşalan kanallara bağlı asini olarak bilinen keseler içindeki sekretuvuar hücre kümelerinden oluşur. Endokrin bölüm ise Langerhans adacıkları olarak adlandırılan izole endokrin doku adacıklarından oluşmakta ve pankreasın her tarafına dağılmış halde bulunmaktadır. Pankreasın ekzokrin ve endokrin dokuları embriyonik gelişim sırasında farklı dokulardan türemektedir. Her ikisi de besin moleküllerinin metabolizmasıyla ilgiliyken, farklı düzenleyici mekanizmanın kontrolü altında farklı işlevleri bulunmaktadır.

Ekzokrin pankreas, iki bileşenden oluşan bir pankreatik sıvı salgılamaktadır. Bunlar; asiner hücreler tarafından salgılanan pankreatik enzimler ve pankreatik

kanalda kanal hücreleri tarafından salgılanan sodyum bikarbonattan zengin alkalın sıvıdır.

Pankreatik enzimler, zimojen granüllerinde sentezlenmekte ve ihtiyaç halinde ekzositozla salınmaktadır. Bu enzimler, diğer sindirim sekresyonlarının yokluğunda dahi besinlerin neredeyse tamamını sindirebildikleri için oldukça önemlidir. Asiner hücreler tarafından, protein sindirimi için proteolitik enzimler, karbonhidratlar için pankreatik amilaz ve yağların sindirimi için de pankreatik lipaz enzimi salgılanmaktadır.

Pankreasın ekzokrin sekresyonu kolesistokinin (CCK) ve sekretin hormonları tarafından kontrol edilmektedir. Duodenuma ulaşan kimus, duodenal mukozadan CCK serbestlenmesine neden olarak pankreasın ekzokrin salgısını uyarmaktadır. Sindirim için asiner hücreler tarafından pankreatik enzimler salgılanmaktadır. Ayrıca asidik kimus duodenumdan salgılanan sekretin aracılığıyla pankreatik kanal hücrelerinden duodenuma bikarbonat açısından zengin pankreatik sıvı salgılanmasına neden olur. Böylece sindirim enzimlerinin aktifleşebilmesi için uygun alkali ortam oluşur (27).

4.2. Pankreatit

Pankreatit, gastrointestinal sistemin önemli bir inflamatuvar hastalığıdır. Akut ya da kronik bir hastalık olarak ortaya çıkmaktadır. Akut formu, yeni ve ani ortaya çıkan bir iltihaplanma iken; kronik formu, devam etmekte olan pankreatik inflamasyonun atrofi ve fibroza doğru ilerlemesidir (28, 29).

4.3. Akut Pankreatit

AP, morbidite ve mortalite bakımından önemli riskler taşıyan, tedavisine ABD’de yılda 2.6 milyar dolar harcanan, sindirim enzimlerinin aktivasyonu ile karakterize yaygın gastrointestinal hastalıklarından biridir (30). AP vakalarının bir kısmı hafif seyretmekte ve bu hafif formda mortalite oranı %5 civarında olmaktadır (31). Vakaların şiddetli formu ise organ yetmezliği ile sonuçlanabilmekte ve mortalite %30’a ulaşabilmektedir (32). ABD’deki hastanedeki ölümlerin nedenleri

arasında beşinci sıradadır (29). Patogenezinin tam olarak anlaşılabilmesi nedeniyle bu hastalık için önleyici ya da tam tedavi edici bir yöntem bulunmamaktadır.

AP gelişiminde birçok etmen rol oynamaktadır ve nedenleri aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir (33):

1. Ekzokrin salgının engellenmesi (tıkanma)

- Koledok taşları, koledokosel
- Parazitler
- Pankreas divisium (aksesuar kanalın tıkanması)
- Oiddi sfinkter basınç fazlalığı

2. Toksinler ve ilaçlar

- Alkoller
- Yılan zehirleri

3. Enfeksiyon

- Bakteriyel (mikoplazma, m.tüberkulozis...)
- Viral (hepatit A, B, HIV...)
- Paraziter

4. Travma

- Künt karın travmaları
- Postoperatif
- ERCP (Endoskopik retrograd kolanjio-pankreatografi), sfinkterotomi

5. Vasküler nedenler

- İskemi, vaskülitler
- Ateroskleroz

6. Metabolik bozukluklar

- Hiperkalsemi
- Hipertrigliseridemi

7. Diğer nedenler

- Penetre peptik ülser
- Crohn hastalığı
- Pankreas kanseri

8. İdiyopatik nedenler

AP'nin patogenezi ise, 3 başlık altında sınıflandırmak mümkündür (9):

1.İntraasiner olaylar

- Zimojen aktivasyonu
- Otofaji
- Oksidatif stres
- Redoks sinyali
- Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu
- Endoplazmik stres

2.İnflamatuvar cevaplar

- Nüklear faktör kappa-B (NF-κB) aktivasyonu
- İnflamazom
- Damage-associated molecular pattern (DAMPs) lokal inflamasyondaki rolü
- İmmün hücreler
- İnflamatuvar sitokinlerin sistemik inflamasyondaki rolü

3.Çoklu organ yetmezliği

- Koagülasyon bozuklukları
- Bakteriyel translokasyon ve sekonder enfeksiyon
- Adipoz dokunun rolü

AP gelişimindeki olaylar tez çalışmasının hipotezi esas alınarak aşağıda yer alan zimojen aktivasyonu, oksidatif stres, NF-κB aktivasyonu, inflamatuvar sitokinlerin rolü ve çoklu organ yetmezliği başlıkları altında incelenecektir.

4.3.1.İntraasiner olaylar

4.3.1.1.Zimojen aktivasyonu

Özellikle inflamasyon sürecinin başlangıcında asiner hücrelerdeki uygunsuz tripsinojen aktivasyonunun rolü önem taşımaktadır (34). Hücre hasarına neden olan tripsinojen aktivasyonunun pankreatitin erken safhalarında gerçekleştiği, sonrasında ise hem lokal hem de sistemik inflamasyonun ilerlemesinde, tripsinden bağımsız bir mekanizmanın olduğu belirtilmektedir (22).

Pankreasta tripsinojen aktivasyonu ve tripsin inaktivasyonu (otoaktivasyon ve otoliz) temel olarak tripsin ile kontrol edilmektedir (35). AP sırasında ise tripsin aktivasyonunda, asiner hücrelerdeki sitozolik kalsiyum akışının etkili olduğu bilinmektedir (36). Sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonundaki artış kolesistokinin hiperstimülasyonu ile gerçekleşmekte ve tripsinojen aktivasyonuna sebep olduğu düşünülmektedir (37). Bununla birlikte, sitozolik kalsiyum konsantrasyonunun artması, mitokondride önemli bir hasara yol açmakta ve ATP üretimini etkileyerek hücre ölümüne ve nekroza sebep olmaktadır (38). Gelişen pankreatik nekrozun derecesi, hastalığın ilerlemesinde önemli bir belirleyici olmaktadır ve nekroz varlığı AP'deki mortalite oranını yükseltmektedir (39). Sürekli artan kalsiyumun, hücre ölümünü hızlandıran asiner hücredeki reaktif oksijen moleküllerinin (ROM) yükselmesine neden olduğu ve hücreyi apoptoza sürüklediği iddia edilmektedir (40).

Normal şartlar altında asiner sitoplazmada inaktif zimojen granülleri olarak salgılanan pankreatik enzimler, katepsin B gibi erken tripsinojen aktivasyonuna neden olan lizozomal hidrolazlarla aktive olabilmektedirler (12). Ancak, katepsin B, AP sırasında tripsin aktivitesini artırmasına rağmen tripsinojen aktivasyonu da tek başına etkili değildir (41). Zimojen granüllerinin salınımına bağlı olarak pankreas lümeni asiditesi artmakta ve asidik pH ile katepsin B'nin katalitik aktivitesini artırılarak zimojen aktivasyonu gerçekleşmektedir (8).

Yapılan bir çalışma genel kabul gören tripsinojen merkezli pankreatit hipotezine ters düşmekte, tripsinojen aktivasyonunun pankreas hasarının sadece yarısından sorumlu olduğu ve pankreatitin sadece bir otosindirim olayı olduğuna itiraz etmektedir. Kısa süre önce ise Gaiser ve ark. (34) pankreastaki aktif tripsin ekspresyonunun AP indüksiyonu için yeterli olduğunu göstermiş ve elde edilen bilgiler ışığında tartışmaları yeniden alevlendirmiştir.

Yine başka bir çalışmada da, AP sırasında erken pankreatik hasar için tripsinojen aktivasyonunun gerekli olduğu ifade edilmektedir (22). Katepsin L nakavt fareleri ile yapılan bir çalışmada, yüksek tripsinojen aktivasyonuna rağmen, pankreas hasarında önemli azalma olduğu gözlemlenmiştir (42). Buna dayanarak, tripsinojenin

aktivasyonunun pankreatit boyunca tripsin ve diğer proteazları degrade ederek koruyucu bir etki yaratabileceği hipotezi de öne sürülmektedir. Böylece intraasiner sindirim enzimlerinin aktivasyonunu önlenebilir veya geciktirilebilir olduğu tartışılmaktadır (43).

Genel olarak, tripsinojen aktivasyonunun hem duodenumdaki fizyolojik koşullarda hem de asiner içindeki patolojik süreçte diğer sindirim enzimi aktivasyonunun basamaklarını tetikleyen ilk adım olduğu kabul edilmektedir (44). Tripsinojen geni eksik farelerde kimotripsinojen aktivasyonunun tamamen ortadan kalktığı bulgusu, intraasiner zimojen aktivasyonu sırasında tripsinojen aktivasyonunun gerçekten önemli bir adım olduğunu teyit etmektedir (22).

Sonuç olarak mevcut veriler, AP ile zimojen aktivasyonu arasındaki ilişkinin varlığını göstermekte, fakat mekanizması ve rolüne dair net bir bilgi vermemektedir.

4.3.1.2. Oksidatif stres

AP'de oksidatif stresin gelişiminde asiner hücrelerde kalsiyum sinyallenmesinin bozulması öne çıkan bir özelliktir (37); sitozolik Ca^{+2} 'nin aşırı yükselmesi mitokondride önemli bir hasara yol açarak ATP üretme kabiliyetlerini etkilemekte ve hücre ölümünü desteklemektedir (38). Ca^{+2} sinyallenmesindeki bozukluk, semptom başlangıcından sonraki günlerde ortaya çıkabilecek pankreatik nekrozun yaygınlığına ve hastalığın ilerlemesine katkıda bulunmaktadır. Nekrozun varlığı ise, AP'deki mortalite oranını önemli ölçüde artırmaktadır (40).

Ca^{+2} 'nin sürekli yükselmesinin, asiner hücre içerisinde bulunan, hücre ölümünü destekleyen ROM'da yükselmelere neden olduğu gösterilmiştir (45). Ancak, oksidatif stresin AP'nin gelişiminde tam olarak yer alması hala belirsizdir (46). Ayrıca bugüne kadar klinikte uygulanan antioksidan tedavilerin etkileri ile ilgili tartışmalar da devam etmektedir (16). Özellikle AP'nin gelişmesi ve gelecek vaat eden yeni terapötik yaklaşımlarla ilişkili olarak, ekzokrin pankreasta hücre ölümünü belirlemede ROM ve Ca^{+2} 'nin etkileriyle ilgili yeni kanıtlara ihtiyaç duyulmaktadır.

AP patogenezinde Ca^{+2} , asiner hücrelerde homeostazisin bozulmasına neden olarak AP gelişiminde merkezi bir rol almaktadır (47, 48). Kolesistokininin hiperstimülasyonuna (37), safra tuzlarına (49), alkole ve oksidatif olmayan metabolitlere (50) yanıt olarak artan Ca^{+2} ; vakuol oluşumu ve hücre ölümü dahil olmak üzere asiner hücrelerde hasara neden olmaktadır (51).

Ca^{+2} 'a yanıt olarak artan ROM'lar asiner hücre içerisinde üretilebildiği gibi (45), aynı zamanda inflamatuvar yanıt sırasında nötrofiller tarafından da üretilmekte ve salınmaktadır. Bu şekilde pankreatik hasara ve sistemik komplikasyonların gelişimine etki etmektedir (46). Aşırı ROM oluşumunun lipit membranlarının, proteinlerin ve DNA'nın bozulmasıyla çeşitli hücre tiplerinde hasarı teşvik ettiği gösterilmiştir (52). Bu şekilde, oksidatif stres pankreastaki hasarın derecesini ve şiddetini yansıtmaktadır.

İnflamasyonda ROM'un bir diğer kaynağı ise NADPH oksidazdır. NADPH oksidazın yetersiz üretiminin, serulein ile indüklenmiş pankreatitli farelerde tripsin aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir (15). Klinikteki bulgular da, AP hastalarında ROM miktarının önemli ölçüde arttığını ve azalmış antioksidan düzeylerini göstermektedir (40).

İnflamatuvar bir uyarana yanıt olarak dolaşımdaki vasküler permeabilitenin artmasıyla inflamasyon bölgesine göç eden nötrofiller (53), granüllerinde bulunan miyeloperoksidaz (MPO) enziminin aktivitesi sonucunda ROM üretmektedirler. Dokudaki nötrofil infiltrasyonunun ve MPO enziminin aşırı artması sonucunda antiproteaz ve antioksidan aktivite bozabilmekte ve ciddi doku hasarı meydana gelebilmektedir (9).

AP'de, dokuda ve plazmada artmış lipid peroksidasyonu (MDA) ve MPO aktivitesi ile birlikte pankreasta indirgenmiş endojen antioksidan olan glutatyonun (GSH) belirgin olarak tükendiği belirtilmektedir (54, 55). Ayrıca artan MDA düzeyleri de pankreatite bağlı çoklu organ işlev bozukluğu ile ilişkilendirilmektedir (56).

Pankreatik dokuda GSH'nin tükenmesinin, AP'nin başlangıç evresinde olduğu ve hastalığın şiddetini etkilediği ifade edilmiştir (8). Bununla birlikte, bu tükenmenin AP'nin erken evresinde glutasyon oksidasyonu değil glutasyon tüketimi şeklinde olduğu belirtilmiştir (57). Bu nedenle, inflamatuvar süreçle ilişkili ROM detoksifikasyonu, erken glutasyon tükenmesinin ana nedeni olarak görülmektedir. Pankreatik glutasyon tükenmesinin proenzim aktivasyonuna bağlı olarak gerçekleştiği öne sürülmektedir (8).

Şiddetli AP'li hastaların plazmasında oksidatif hasarın bir sonucu olarak MDA ve MPO aktiviteleri artmaktadır (54). Bu parametreler genellikle hem klinik hem de deneysel çalışmalarda hastalığın ciddiyetiyle ilişkilidir. Bu nedenle, MDA düzeylerindeki artış AP'deki doku hasarı ile korelasyon göstermektedir (55).

Oksidatif stres ve proinflamatuvar sitokinler arasındaki etkileşimler, inflamatuvar yanıtı ve AP'de doku hasarını kötüleştirir (58, 59). Bu bağlamda, AP'deki inflamatuvar cevabı spesifik olarak hedeflemek için antioksidanların uygulanması yararlı olabilir.

4.3.2. İnflamatuvar cevaplar

4.3.2.1. NF-κB aktivasyonu

Gukovsky ve arkadaşları (60) tarafından AP boyunca asiner hücrelerde NF-κB'nin aktivasyonu ilk kez rapor edilmiş ve AP patogenezinde önemli bir inflamatuvar yol olarak ilişkilendirilmiştir (61, 62).

İnfilamasyon sırasında inhibitörκ-B'nin (IκB) bozunması, NF-κB'nin nüklear translokasyon sinyallerini serbest bırakarak NF-κB dimer p50 / p65'in DNA düzenleyici bağlanma alanına bağlandığı ve proinflamatuvar sitokin genlerini regüle ettiği ifade edilmektedir. NF-κB aktivasyonuna yol açan hücre içi sinyal yolları, artmış sitozolik Ca⁺² konsantrasyonu ve protein kinaz C (PKC) aktivasyonu vasıtasıyla etki etmektedir (63, 64).

NF-κB aktivasyonu ile interlökin (IL)-1β, IL-6 ve tümör nekroz faktör-α (TNF-α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin ifadesinde artış olmakta ve inflamatuvar cevapta rol oynamaktadırlar (15). Kullanılan antioksidanlar ile NF-κB aktivasyonu baskılanarak bu inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu inhibe edilebilmekte, klinik çalışmalarda da, AP'li hastaların serumlarında IL-1β, IL-6 ve TNF-α gibi inflamatuvar sitokinlerin varlığı ortaya konulmaktadır (65).

NF-κB aktivasyonu ile salgılan proinflamatuvar sitokinlerden olan TNF-α'nın, AP'nin serulein modelinde asiner hücreler tarafından salgılandığı gösterilmiştir (66). Ek olarak, NF-κB'nin genetik olarak susturulmasının pankreas hasarının boyutunu azalttığı ve serulein kaynaklı AP'de TNF-α ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (67).

Tripsinojen aktivasyonu ve NF-κB aktivasyonu arasındaki ilişki ise hala tartışılmaya devam edilmektedir. NF-κB aktivasyonunun, intraselüler tripsinojen aktivasyonu ile eş zamanlı olarak AP'de ortaya çıktığı açıklanmıştır. Bir çalışmada, spesifik olmayan proteaz inhibitörleri kullanılarak in vitro NF-κB aktivasyonunun inhibe edildiği bildirilmekte ve bu nedenle, tripsinojen aktivasyonunun NF-κB aktivasyonu için gerekli olduğu sonucuna varılmaktadır (20). Başka bir çalışmada ise, in vitro asiner hücrelerdeki aktif tripsinin adenoviral aracılı ekspresyonunun, NF-κB aktivasyonunu başlatmadığı belirtilmiştir (21). Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda tripsinojen aktivasyonunun yokluğunda NF-κB aktivasyonunun varlığı, pankreatit sırasında NF-κB aktivasyonunun tripsinojenden bağımsız olduğunu düşündürmektedir (22).

Yapılan çalışmalar, AP gelişimi için gerekli olan bu iki olayın henüz tam olarak netlik kazanmadığını ve mekanizmalarına dair yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

4.3.2.2.Sitokinlerin rolü

AP'li hastalarda serum seviyelerinde TNF-α, IL-1β, IL-6 gibi çeşitli proinflamatuvar sitokinlerde, IL-8, Monosit kemotaktik protein (MCP)-1 gibi

kemokinlerde ve pankreasta aktive olan hücrelerden kaynaklanan makrofaj göç inhibitör faktörlerinde artışlar gösterilmiştir (68).

Bu genel proinflamatuvar faktörler spesifik ya da spesifik olmayan yollar ile pankreatik inflamasyonu şiddetlendirmektedir. Örneğin IL-6'nın, patolojik yardımcı T17 (Th17) hücreleri ile inflamasyonu geliştirebileceği ya da pankreas içine inflamatuvar makrofajların girişine ve MCP-1 indüksiyonuna katkı sağlayabileceği belirtilmektedir (41).

IL-6 seviyeleri, IL-1 β ve TNF- α 'nın serbestlenmesi sonrası artmaktadır. IL-6 B ve T lenfositlerini ve koagülasyon sistemini aktive etmekte ve ateş, lökositoz ve CRP artışına öncülük etmektedir (69). Yapılan bir çalışmada kanda IL-6 seviyesinin organ yetmezliği ve mortalite ile ilişkili olduğu da gösterilmektedir (70).

IL1- β , insanda AP patogenezinde önemli olan diğer bir proinflamatuvar sitokindir (71). Bu sitokin, inflamasyon bölgelerine nötrofil infiltrasyonunu indüklemeye kabiliyeti de dahil olmak üzere birden fazla yolla pankreatik inflamasyona aracılık etmekte ve diğer proinflamatuvar sitokinler ve kemokinlerin indüklenmesinde etkileri olmaktadır (72). Ayrıca bu sitokinin bir öncül formunun, TLR9 yoluyla etki eden DAMP'ler tarafından indüklendiğine, IL1- β 'nin, kommensal organizmalarda bağırsak geçirgenliğinin artırılmasında rol oynayabileceğine dair kanıtlar vardır. IL1- β 'nin öncül formu, nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon domaini içeren protein (NOD) benzeri reseptör proteini 3 (NLRP3) inflamazomu vasıtasıyla aktif bir forma dönüştürülmektedir ve bu nedenle NLRP3 inflamazom bileşeninden yoksun olan fareler, serulein kaynaklı pankreatitin indüksiyonuna karşı direnç göstermektedir (73, 74).

Pankreatitin gelişiminde merkezi bir role sahip olan TNF- α , pankreatik antijen sunan hücrelerde indüklenen proinflamatuvar bir sitokindir. Sendler ve ark. (75) tarafından yapılan bir çalışmada, TNF- α 'nın aşırı CCK reseptör uyarımına yanıt olarak gerçekleşen ilk asiner hücre hasarına neden olduğu gösterilmiştir. TNF- α aracılığı ile pankreatik asiner hücreler uyarılarak pankreatik enzimlerin aktivasyonu

gerçekleşmektedir. Bu da hücre nekrozu ve erken proteaz aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. Serulein ile indüklenmiş pankreatitte, makrofajlar TNF- α 'nın hücresel kaynağıdır (76, 77) ve asiner hücre nekrozunun sürekliliğinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle TNF- α deneysel pankreatit gelişiminde kritik bir role sahiptir. TNF- α hayvan AP modellerinde, AP indüksiyonundan 30 dakika sonrası kadar erken bir sürede serbestlenmektedir. Ayrıca diğer sitokinleri, serbest oksijen radikallerini, hücre ölümü ve endotelial aktivasyonu da regüle etmektedir. Ancak, bu sitokinin insan pankreatitinde de aynı derecede önemli bir role sahip olduğunun doğrulanması gerekmektedir.

Son zamanlarda pankreatit patogenezinde önemli bir aktör olan IL-33 proinflamatuvar sitokin varlığı da kanıtlanmıştır. Şiddetli AP'li hastalarda serumda artan IL-33 düzeyi kitlesel asiner hücre ölümü ile ilişkili bir durumdur (41). Pankreatitte IL-33'ün rolü Watanabe ve ark. (78) tarafından tekrarlayan düşük doz serulein ve NOD-1ligand uygulamasıyla indüklenen kronik pankreatit (KP) modelinde tanımlanmıştır. Xue ve ark. (79) tarafından yapılan bir çalışmada IL-33'ün serulein ile indüklenmiş KP'li farelerde ve KP'li insanlarda M2 makrofajları aktive ettiği gösterilmiştir. Fakat IL-33 reseptörü (ST2) ekspresyonu eksik farelerde pankreatit geliştiği, IL-33-ST2 sinyal yolağının koruyucu bir role sahip olduğunu gösteren birkaç çalışma bulunmaktadır (80, 81).

AP'nin patofizyolojisinde gerçekleşen olaylar sıralandığında, öncelikle NF κ B aracılığıyla pankreasta hücresel hasar ve lokal inflamasyona neden olan intraasiner olaylar meydana gelmektedir. Sonrasında ise, başta lökositler olmak üzere immün hücrelerin alımını ve çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin salınımını içeren inflamatuvar yanıtın ilerlemesi gerçekleşmektedir. Devamında da, meydana gelen aşırı immün yanıt ile organ yetmezliği ve yüksek mortalite görülmektedir. Ayrıca bu esnada, mikrosirkülasyon ve koagülasyon bozuklukları gelişmekte ve AP şiddeti ile organ yetmezliğine katkıda bulunmaktadır.

4.3.3. Çoklu organ yetmezliği

Şiddetli sistemik inflamasyonun en önemli sonuçlarından biri çoklu organ işlev bozukluğudur. AP'nin başlangıcında steril inflamasyona bağlı olarak birkaç gün içerisinde (erken şiddetli AP) ya da sekonder septik komplikasyonlara bağlı olarak geç dönemde gelişebilmektedir.

Çoklu organ yetmezliğinin mekanizmaları tam olarak netlik kazanmasada, neden olan olaylar; vazodilatasyona, kılcal damar sızıntısına ve ödeme yol açan mikrodolaşım anormallikleri; doku hipoksisine ve arteriyel hipotansiyona neden olan koagülasyon anormalliği ve hücre sel yaralanma ve doku hasarına yol açan iltihaplanma ve mitokondrial hasarlanma olarak belirtilmektedir (9). Buna ek olarak, enfekte nekroza ve sepsise yol açan bakteri translokasyonu, diğer septik koşullarda olduğu gibi organ yetmezliğine yol açabilmektedir (82).

Hemodinamik değişiklikler sonucu AP'de endotel hücre disfonksiyonu ile bariyer fonksiyon kaybı, kılcal kaçak, ödem ve aktive olmuş bağışıklık hücrelerinin inflamasyon bölgesine tutunması görülmektedir (83). Lökosit infiltrasyonu, trombosit agregasyonu ve vazokonstriksiyon pankreatik kan akımının azalmasına, pankreas iskemisine ve kılcal geçirgenliğin artmasına yol açmaktadır (9).

Pankreatik asiner hücrelerden türetilen pankreas enzimlerindeki artış AP'de pankreas işlevi ve patolojisi hakkında bize bilgi vermektedir. AP'nin laboratuvar tanısında pankreatik enzimler temel bir parametre olarak kabul edilmektedir (84). Pankreas enzimlerinden olan amilazın, hastalığın başlangıcından itibaren altı saat içinde plazmada hızla arttığı, 10-12 saatlik bir yarılanma ömrü gösterdiği ve 3-5 gün boyunca yükselerek sonrasında böbrekler tarafından atıldığı bildirilmektedir (85). Bununla birlikte, amilazın erken dönemde normale dönmesi, hastalığın düzelmekte olduğunu gösterebileceği gibi ağır pankreas hasarının belirtisi de olabilmektedir (86).

AP'de diğer bir pankreatik enzim olan lipaz düzeyi %60-80 hassasiyet ve özgülüğe sahip olmaktadır (87). Lipazın serum konsantrasyonunun hastalığın başlangıcından 3-6 saat içinde arttığı ve 24 saat içinde doruğa ulaştığı

bildirilmektedir (88). Artan serum seviyesi, normal seviyeye inmeden yaklaşık 7-14 gün boyunca dolaşımında kalmaktadır. Amilazın aksine, lipaz renal tübüllerde yeniden emilmekte ve daha uzun sürede ve yüksek konsantrasyonda dolaşımında kalmaktadır. (89). Bu nedenle hastalarda daha fazla duyarlılık kazanmaktadır (84).

AP'nin şiddeti ile ilişkili olarak aynı zamanda akciğer hasarı da görülmektedir. Alveolar kapiller bariyerdeki değişiklikler ve inflamasyon, anormal pulmoner fonksiyonlara yol açabilmektedir (90). Ayrıca karaciğer ve böbrek işlev bozukluğu da olabilmektedir (91, 92).

Karaciğer dokusu, yüksek oksijen tüketimi ve az miktarda antioksidan savunması nedeniyle oksidatif strese duyarlı olduğundan AP, dokuda belirgin mikrosirkülasyon bozukluklarına ve dejeneratif değişikliklere sebep olmaktadır (93). AP sonucu gelişen karaciğer fonksiyon bozukluğunda bilirubin seviyesi, artmaktadır. Serum bilirubin seviyesi 1 mg'ın üzerindeki değerler anormal kabul edilmekte ve 3-4 mg üzerindeki değerler şiddetli hepatobiliyer hasarı göstermektedir (94). Biliyer pankreatitte önemli diğer bir parametre ise alkalın fosfataz (ALP)'dir ve obstrüktif sarılıkta artmaktadır. ALP'deki artışın 246 U/L'den fazla olması, kanallarda safra pankreatitine neden olan tıkanıklığı göstermektedir. Biliyer pankreatit ve safra taşlarıyla ilişkili bireysel klinik parametreler de tanımlanmıştır (95).

Safra kesesi pankreatitinde, karaciğer hasarına bağlı olarak bilirubin, ALP'nin yanı sıra alanin transaminaz (ALT) ve aspartat transaminaz (AST) düzeyleri de anlamlı olarak artmaktadır. Artmış ALT ile sarılık, ERCP gerektiren safra taşı etyolojisini düşündürmektedir (84). ALT veya AST düzeyleri, normalin üst sınırının üç katından fazla olduğunda safra taşı kaynaklı akut pankreatiti işaret etmektedir (96). Akut safra taşı pankreatitinde, serum ALT düzeyi başlangıçtan 48 saat sonra >150 U/l'lik bir artış göstermektedir (97). Bununla birlikte yapılan bir çalışmada da ANP'li sıçanlarda serum ALT seviyesinde 24. saatte anlamlı bir farklılık göstererek yükseldiği belirtilmektedir (98).

4.4. Kronik Pankreatit

Kronik pankreatit (KP), pankreasın progresif inflamasyonu, parenkimal (ekzokrin ve endokrin) hücrelerin kaybı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, yağ replasmanı, stellat hücre aktivasyonu ve fibroz, kalsifikasyon ve sinir genişlemesi ile tanımlanmaktadır (99). Hastalık geliştikçe ekzokrin ve endokrin işlevlerin önemli ölçüde bozulması belirgin hale gelmekte ve kronik karın ağrısına ek olarak besinlerin sindirimi ve emilimide etkilenmektedir (100). Klinik bulgular ağrı ve yetersiz sindirim ile seyretmekte kimi zamanda beta hücre kaybına bağlı diyabeti içermektedir. Ayrıca lipaz salınımı normalin %10'undan daha azına düştüğü durumlarda Steatorrhea (yağlı dışkı) görülmektedir (101). KP etiyojisi %70 oranında alkole bağlı, %20 oranında ise idiopatik olup, diğer etiyojileri sigara, tıkanık lezyonlar, diğer toksik ajanlar ve genetik faktörler kaynaklıdır (102).

Belirlenmiş tanı kriterlerinin yokluğunda, insanda KP'nin erken tanısı zor ve çoğunlukla klinik görünüm, görüntüleme sonuçları ve pankreatik fonksiyon test sonuçlarının bir kombinasyonuna dayanmaktadır (103). Ayrıca, KP'nin hayvan modellerini değerlendirme kriterlerine ilişkin herhangi bir görüş birliği de bulunmamaktadır. Klinik ve deneysel veriler AP'nin KP'ye ilerleyebileceğini ve tripsin aktivitesi ile mekanik bir bağlantı olabileceğini düşündürmektedir. Hücre içi tripsin aktivitesinin pankreatit başlatma kabiliyetine sahip olduğu, fakat diğer faktörlerin yokluğunda tripsinojenin hücre içi aktivasyonunun, KP gelişimi için yeterli olmadığı gösterilmiştir (34). Buna karşılık, ROM'un indüklediği asiner hücre hasarı, pankreasta KP'nin histopatolojik özelliği olan kitlesel fibroza neden olmaktadır (104).

Etkili tedavilerin eksikliği ve önleyici yaklaşımların sınırlı olması halen klinisyenler için önemli bir sorundur. Yoğun araştırmalara rağmen, hastalığı başlatan veya ilerlemeyi KP'ye yönlendiren moleküler mekanizmalar halen iyi anlaşılammıştır ve elde edilen bilgiler halen KP insidansının arttığını göstermektedir (105,106).

4.5. Akut Pankreatit Modelleri

Son 150 yıldır AP ve KP'nin patofizyolojisini ve patogenezini anlamak için birçok hayvan modeli geliştirilmiştir. Bu modeller, insandaki hastalığın tüm yönlerini yansıtamamakla birlikte hastalığın gelişimine katkıda bulunan genetik ve moleküler faktörlerin anlaşılmasına ve yeni tedavi edici yaklaşımlar geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (107). Pankreatit modelleri için çeşitli hayvan türleri kullanılmasına rağmen daha ucuz elde edildikleri ve daha iyi standardize edilebildikleri için yaygın olarak fare ve sıçan gibi kemirgenler kullanılmaktadır.

Sıçan ve fare pankreası dalak kısmı nispeten kompakt, duodenal kısmı mezenter içinde dağılmış olduğundan bir ara form olarak sınıflandırılmaktadır (108). Gastrik, splenik, parabilier ve duodenal segmentler olmak üzere dört kısma ayrılmaktadır. Gastrik lobun diğer büyük türlerde karşılığı yoktur. Yukarıda belirtildiği gibi splenik segment biraz daha kalınken duodenal segment mezenter içine dağılmıştır. Duodenal segmentin kaudal kısmı ve splenik segmentin dorsal kısmı birleşerek kolon yakınlarına kadar uzanmaktadır (109).

Akut pankreatit çalışmalarında kullanılan modeller aşağıda sınıflandırılmıştır:

4.5.1. Sekretuvar bir ajanla (Serulein) indüklenen pankreatit modeli

Sıçanların pankreatik asiner hücrelerinde proteolitik enzimleri otolize neden olacak kadar yüksek seviyelere çıkaran kimyasallar ile pankreatit indüklenebilir. Bu ajanlardan biri olan serulein, bir CCK analogudur ve saatte 5-10 µg/kg dozunda aralıklarla birkaç kez intraperitoneal (ip) enjeksiyon ile verildiğinde AP gelişmektedir (110). Serulein verildikten 30 dk. sonra pankreatik enzim aktivasyonunun meydana geldiği ve progresif interstisyel ödem olduğu bilinmektedir. İnflamatuvar hücrelerin pankreasta infiltrasyonu, ödem, asiner hücre vakuolizasyonu ve pankreasta aktive edilmiş pankreas enziminin varlığı ve çeşitli histopatolojik bulgular AP mekanizmasını desteklemektedir (111).

Pankreatit derecesinin kolaylıkla kontrol edilebilmesi ve bu seviyenin sınırlandırılabilmesi modele avantaj sağlamaktadır. Ayrıca, model noninvaziv,

yüksek tekrarlanabilirlik ve birden fazla türe uygulanabilme özelliğine sahiptir (112). İn vitro asiner hücre çalışmaları ile paralel olarak in vivo deneyler ile de hücre içi sinyal iletim olayları, proteaz aktivasyon kaskadları ve AP'nin erken evresinde yer alan hücre ölüm yollarının incelenmesi için kullanışlı bir modeldir. Genellikle ödematöz pankreatitin erken safhalarını değerlendirilmesinde kullanılmaktadır ve pankreatit fizyopatolojisindeki endokrin değişiklikleri (sekretin ve kolesistokinin seviyeleri gibi) değerlendirmede kolaylık sağlamaktadır (99).

Bununla birlikte, bu modelin birçok önemli dezavantajı da vardır. Seruleinin maksimum dozunda dahi, hafif, kendi kendini sınırlayan AP gelişmekte, şiddetli nekrotizan pankreatit indüklenememektedir. Bu durum, yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olan ciddi pankreatit çalışmalarında kullanımını sınırlamaktadır. Buna ek olarak, insektisit gibi kolin esteraz inhibitörlerine (113) ya da Trinidad akrep toksinine maruz kalma gibi kazara yüksek konsantrasyonda sekretagog alan hastalarda AP rapor edilmesine rağmen, sekretagogların aşırı stimülasyonu insanda görülen AP'nin yaygın nedenlerinden biri değildir (114). CCK kemirgenlerde ekzokrin pankreas sekresyonunu regüle etmede önemli bir role sahiptir. Ancak, insan ve kemirgen pankreasında CCK ile ilişkili farklılıklar mevcuttur. Kemirgenlerde ekzokrin salgının düzenlenmesinde CCK sekresyonu esas rolü oynarken, insanda pankreatik asiner hücreler CCK ile uyarılan kolinerjik yolla regüle edilmektedir (115, 116). İnsan ve kemirgen pankreası arasındaki bu farklılık modele dezavantaj sağlamaktadır.

4.5.2. İmmün aracılı pankreatit

1954'te Thal ve Brackney (117), 24 saat boyunca *Escherichia coli* veya meningokok toksininin keçi veya tavşanın pankreas kanallarının içine 2 kez enjekte edilmesinin hemorajik nekrotizan pankreatit oluşturduğunu bildirmişlerdir. Başka bir grup ise, ovalbüminin subkütan enjeksiyonu ile hayvanları duyarlılaştırarak ve ardından pankreas kanalı içine ovalbümin veya yabancı serum ekleyerek pankreatiti indüklemişlerdir (118).

Bu modeller yalnızca genel bir alerjik olayın özelliklerini araştırmak için kullanılabilmekte ve teknik olarak oluşturulması zor olabilmektedir. Bu nedenle, araştırmacılar arasındaki kabulleri sınırlı kalmıştır. Bunların yerine immünolojik kusurlar nedeniyle spontan pankreatit gelişen yakın akrabalık kemirgenleri veya transgenik modeller geliştirilmiştir (119).

4.5.3.Diyet ile indüklenmiş pankreatit

Lombardi ve arkadaşları (119) farelere, metiyonin ile zenginleştirilmiş kolin eksikliği olan bir diyet (choline-deficient and ethionine-supplemented - CDE diyeti) uygulayarak ciddi nekrotizan pankreatit geliştirmişlerdir. Bu modelde CDE diyeti ile beslenen genç dişi farelerde hemorajik nekroz gelişmekte ve diyetteki gün sayısına bağlı olarak 5 gün içinde mortalite % 100'e kadar ulaşmaktadır (111). Başlangıçta genç dişi fareler kullanılarak geliştirilmiş olmasına rağmen, bu modelde erkek farelerde östrojen verilmesinden sonra kullanılabilir ve sıçanlarda da aynı etkilere sahiptir.

CDE diyeti ile indüklenen AP, genellikle 2-3 günde gelişmekte; ekzokrin parenkimde kitlesel yağ nekrozu, yoğun hemoraji ve inflamatuvar reaksiyonlar ile karakterize edilmektedir (99). Akut hemorajik pankreatit için ideal bir modeldir. Ayrıca, mortalite oranının değişken olmaması pankreatit tedavisinde geliştirilen yeni ilaçların etkinliğini değerlendirmek açısından son derece avantajlıdır (111).

Bu model insanda pankreatit tablosunu yansıtsa da, pankreatit şiddeti cinsiyet, yaş, farenin ağırlığına bağlı değişmektedir. Bununla birlikte CDE diyetinin gruplar arasında eşit tüketilip tüketilmediğinin belirlenememesi gibi bir dezavantaja da sahiptir. Ayrıca, AP ile ilişkili olmayan yağlı karaciğer ve parotitis gibi çoklu organ yetmezliğinin gelişmesi de modele dezavantaj sağlamaktadır. Ayrıca bu modelde belirgin hiperglisemi ve hipokalemi ile birlikte endokrin bozukluk da görölmektedir (99).

4.5.4.Aminoasit ile indüklenmiş pankreatit modeli

L-arginin, sıçanlarda AP'nin indüklenmesi için kullanılan bir aminoasittir. Sıçanlarda L-argininin (5g/kg) tek dozunun akut nekrotizan pankreatiti indüklediği gösterilmiştir (111). L-arginin verildikten 12-24 saatte serum amilaz, lipaz seviyeleri ve anyonik tripsin seviyesi maksimuma ulaşmaktadır. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu ile pankreatik ekzokrin dokudaki nekrotik değişikliklerin şiddeti ise 72. saatte maksimuma çıkmaktadır (99).

Mizunuma ve ark., (120) yüksek konsantrasyonda L-arginini ip yolla uygulayarak şiddetli bir pankreatit modeli geliştirmişlerdir. L-argininin konsantrasyonuna bağlı olarak asiner hücrelerin %100'üne kadar nekroz gelişebilmektedir. İlk ip enjeksiyondan bir gün sonra ödematöz pankreas ağırlığı iki katına çıkmış ve yapılan çalışmalar endoplazmik retikulumun şiştiğini ortaya koymuştur. 2 gün sonra, asiner hücreler nekrotik hale gelmiştir. Kısa süre sonra ise, nekrotik hücrelerin yerini inflamatuvar hücreler ve fibroblastlar içeren interstisyel doku oluşturmaktadır (121, 122).

Mekanizması tam olarak anlaşılamasa da, çeşitli çalışmalar L-argininin serbest oksijen radikalleri, nitrik oksit veya inflamatuvar mediyatörlerin serbest bırakılmasına neden olabileceğini belirtmektedir. Özellikle farelerde patofizyolojisinin tam olarak bilinmemesi ve insanlarda amino asit aşırı dozuna bağlı AP ile benzeşmemesi önemli dezavantajlarıdır (119).

4.5.5.Safra asit infüzyonu ile indüklenmiş pankreatit modeli

Pankreas kanalı içerisine safra infüzyonu pankreatit modelleri arasında en yaygın kullanılanlardan biridir. İlk kez 1856'da Bernard ve ark. (123) tarafından yayınlanmış, çeşitli safra tuzlarının farklı hayvan modellerinde AP oluşturduğu bildirilmiştir. Bu safra tuzları arasında, sodyum taurokolat AP'nin indüksiyonu için en yaygın ve en iyi karakterize edilmiş kimyasaldır (110).

%2-5 oranında yapılan sodyum taurokolat infüzyonu ile pankreatitin geliştiği ve verilen oranın artmasıyla birlikte pankreasta görülen yağ nekrozunun da arttığı

bildirilmiştir. Mortalite oranının ise doza bağlı olarak %10-60 arasında değiştiği belirtilmektedir. İndüksiyondan 24 saat sonra histopatolojik değişiklikler, lökosit infiltrasyonu ve hemoraji görülmektedir (99).

Bu modelin avantajı ise, pankreasta ciddi hemorajik nekrozun nispeten kısa bir süre içinde indüklenebilmesi ve bunun sonucunda çoklu organ yetmezliğinin araştırılabilmesidir. Sodyum taurokolat infüzyonundan hemen sonra, ana pankreatik kanalın çevresindeki pankreas parenkiminde hemorajik nekroz gözlenebilmektedir. Karın duvarı kapatıldıktan 6 ila 12 saat sonra dikiş yeri tekrar açıldığında, asit ve ciddi hemorajik nekroz gözlenebilmektedir. Kanülün pankreatik kanal boyunca yerleştirilmesi için gereken uzmanlık önemli bir dezavantajdır. Ayrıca pankreasta oluşan hasar homojen değildir ve temel olarak pankreatik kanalın çevresiyle sınırlıdır (111).

4.5.6. Alkol ile indüklenmiş pankreatit modeli

Alkolizm, ABD’de en önemli pankreatit nedenlerinden biri olmasına rağmen hayvan modellerinde etanolün tek başına kullanımının sadece pankreatit yatkınlığını artırdığı düşünülmektedir (99). Ayrıca alkolün serulein veya lipopolisakkarit gibi çeşitli ajanlar ile kombinasyonun pankreatiti şiddetlendirdiği ve fibrozun geliştiği gösterilmiştir (124).

Pankreatik kan akımı ve mikrosirkülasyon üzerine ve alkol-kaynaklı serbest oksijen radikali üretimine bağlı pankreatik asiner hasarı araştırmak için kullanışlı bir modeldir (125). Pankreatit gelişimi için etanolün tek başına etkili olmaması ve sekreatuar bir ajana (serulein ya da lipopolisakkarit) gereksinim duyulması ve bu diyetin uzun süre verilmesi modele dezavantaj sağlamaktadır (126).

4.5.7. Kanal ligasyonu ile indüklenen pankreatit modeli

AP, safra kanalının çevresine, tam duodenuma girdiği noktada bir iplik bağlanarak indüklenebilmektedir. Bu ligasyon, posthepatik obstrüktif sarılık ve kolanjite neden olduğu kadar erken pankreatite de neden olmaktadır. Ana pankreatikobiliyer kanalın ligasyonu ile pankreatik ödem ve hemoraji, lökosit

infiltrasyonu ve akciğer, mide ve böbrek gibi çoklu organ yetmezliği gerçekleşmektedir. Kanal ligasyonu ile pankreatik kanal basıncı artmakta ve pankreatik sıvının safra kanalına geri akışı söz konusu olmaktadır. Buna bağlı olarak, pankreatik ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu geliştiği ve amilaz üretiminde artış olduğu belirtilmektedir (127).

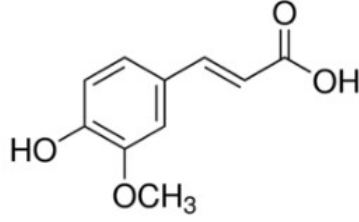
Bu model, pankreatit için ilaçların etkinliğini değerlendirmede ve çoklu organ yetmezliği mekanizmalarını araştırmada klinik olarak faydalıdır; çünkü klinik senaryo, benzer pankreatikobiliyer duktal anatomi nedeniyle insanlardaki ile uyumludur (127). Ayrıca, intrapancreatik sindirim enzimi aktivasyonunun bu modelin ana patolojisini oluşturduğu varsayılmaktadır. Kanal ligasyonu ile ortaya çıkan sekretuar stimülasyon ve aynı anda arteriyel kanın azaltılması AP'yi daha şiddetli bir form haline dönüştürmüştür. Pankreatik kanal tıkanıklığı, ekzokrin pankreasın sindirim enzimlerinin aktivasyonu ile ilişkilendirilen kalsiyum sinyal yolağının fizyolojik yanıtını hızlı bir şekilde değiştirmektedir (128).

Bu süreç intrasellüler depolardan Ca^{+2} 'nin patolojik seviyelerde salınması ve zimojenler ile lizozomal katepsinlerin transaktivasyonu ve kolokalizasyonu ile asiner hücre nekrozunu indüklenmektedir. Her iki olay da supramaksimal stimülasyon ile indüklenen pankreatit modellerinde görülmektedir. Fakat, kanal obstrüksiyonu ile indüklenen formlarda daha ilişkili olmaktadır (41).

Kanal ligasyonu ile oluşturulan bu model, AP'nin en yaygın nedenlerinden biri olan safra taşı tarafından indüklenen AP'yi taklit etmektedir (99). Ayrıca istenmeyen sistemik etkilere neden olabilecek, fizyolojik olarak uygun konsantrasyon ve dozda ajanlar kullanılmasını da önlemektedir. Bununla birlikte, akut biliyer pankreatitin seyri ile paralellik göstermesi gibi avantajlara da sahiptir (111, 112).

Aynı zamanda, tıkanıklığa bağlı AP modeline dair çok fazla çalışmanın olmaması ve tıkanıklığa bağlı olarak gelişen AP insidansındaki artış tez çalışmasında pankreas safra kanal tıkanıklığı modelinin kullanılmasında etkin olmuştur.

4.6. Ferulik Asit



Şekil 4.6.1. FA kimyasal yapısı (129).

Ferulik asit ($C_{10}H_{10}O_4$), antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antikansorejenik ve radyoprotektif etkileri olan hidroksisinamik asit türevi bir fitokimyasaldır (130). Turunçgiller ağırlıklı olmak üzere çeşitli meyve, pirinç, mısır, buğday, kavrulmuş kahve ve sebzelerde bulunmaktadır. İlk kez 1866'da reçineden izole edilmiş ve 1965'te kimyasal olarak sentezlenmiştir (131).

Fenolik çekirdeği ve uzun bir yan zinciri nedeniyle FA, serbest radikal temizleme etkisi olan rezonans stabilize fenoksi radikali oluşturmaktadır (132). Bu da FA'nın reaktif oksijen türleri aracılığıyla oksidasyona karşı DNA ve lipidleri korumasına olanak sağlamakta (131) ve Alzheimer (134), diyabet (135), kanser (136), hipertansiyon (137) gibi oksidatif stres aracılı hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde yararlı etkilerinin ortaya çıkmasında etkili olmaktadır.

FA, bitkilerde serbest ve eşlenik olmak üzere iki şekilde bulunmaktadır. Sahip oldukları formlara ve oral doza bağlı olarak FA'nın biyoyararlanımı değişiklik göstermektedir. Genellikle, serbest FA'nın biyoyararlanımı, karaciğerdeki hızlı konjügasyon süreci nedeniyle çok düşüktür (138). FA'nın koruyucu ve tedavi edici etkinliği, farmakokinetik özellikleri (emilim, metabolizma, dağılım ve eliminasyon) açısından ağırlıklı olarak fizyolojik konsantrasyonlarına bağlı olarak değişmektedir. FA'nın mide, jejunum ve ileumdan emilebildiği gösterilmiştir. Sıçan midesinde FA inkübasyonundan 25 dakika sonra FA'nın %70'nin emildiği, sadece % 0,5-0,4 oranında feçesle atıldığı gösterilmiştir. Serum albümin ise FA'nın en önemli taşıyıcısı olarak görünmektedir (139). Zhao ve ark. (138) oral yoldan verilen FA'nın yaklaşık %4 oranında gastrik mukozada, %10 oranında kanda ve %53 oranında ise

karaciğer ve böbrek dahil diğer dokularda bulunabileceğini göstermiştir. Fakat bu yüksek absorpsiyonun mekanizmasına dair net bir bilgi henüz bulunmamaktadır.

Yapılan sınırlı çalışmalar, insanlardaki FA'nın farmakokinetiğinin hayvanlardakine benzer olabileceğini göstermektedir. Serbest FA, sodyum ferulate oral yoldan verilmesinden 10 dakika sonra insan plazmasında tespit edilmiş ve bu da serbest FA'nın insanlarda hızlı bir şekilde emildiğini göstermiştir (140). Mevcut literatür, birçok gıdada FA'nın kimyası, sentezi ve bulunabilirliği hakkında yeterli bilgi vermektedir. Bununla birlikte, FA'nın farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri hakkındaki bilgiler sınırlıdır. Aynı zamanda, makul bir FA dozunu bildiren çalışmalar eksiktir. FA'nın antioksidan aktivitesi nedeniyle uzun yıllardır bir gıda koruyucu olarak kullanılsa da terapötik ve önleyici profilini tanımlamak için klinik ve mekanik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (132).

Yapılan çalışmalarda FA'nın süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest oksijen türelerinin aktivasyonunu baskıladığı ve peroksit radikallerinin uzaklaştırılması üzerine etkilerinin olduğu (141), proinflamatuvar sitokinlerinin üretimini baskıladığı ve hücre apoptozunu inhibe ettiği gösterilmiştir (23).

Fenolik nükleusu ve geniş yan zinciri nedeniyle FA, serbest radikalleri etkileyebilecek rezonans stabilize bir fenoksil radikalidir. Bu FA'nın DNA ve lipidlerin ROS yoluyla oksidasyona karşı korumasını sağlamaktadır (132). FA, sepsisle indüklenmiş oksidatif hasarı önlemede DNA hasarını azaltmanın yanı sıra aynı zamanda antioksidan miktarında da bir artışa neden olmaktadır (24). FA'nın antioksidan aktivitesi hidroksil, süperoksit radikalleri, nitrik oksit ve peroksinitritin ortamdan temizlenmesiyle gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda FA'nın ayrıca proinflamatuvar sitokinlerin üretimini baskıladığı ve hücre apoptozunu inhibe ettiği gösterilmiştir (23). Formaldehitte indüklenmiş hepatotoksitede FA'nın antioksidan enzim aktivitesini geliştirdiği, MDA düzeyini azalttığı, ROM'u nötralize ettiği ve ALT, AST, ALP, LDH, total bilirubin ile IL-6, TNF- α , IL-1 β ve IL-8 konsantrasyonunu düşürdüğü gösterilmiştir (142).

Farelerde monosodyum ürat kristalleri ile indüklenmiş inflamasyonda FA tedavisinin, NLRP3 inflamazom, kaspaz-1 ve NFκ-B aktivitesini inhibe ederek proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu ve üretimini baskıladığı gösterilmiştir (143). FA tedavisinin TNBS ile indüklenmiş ülseratif kolitte MPO ve proinflamatuvar sitokin seviyelerini azalttığı ve ülseratif kolit ile gelişen apoptozu regüle ettiği belirtilmiştir (25). DSS ile indüklenmiş kolitte ise FA'nın antiinflamatuvar etkisinin NF-κB aktivitesinin inhibisyonu aracılığıyla olabileceği belirtilmiştir (144).

FA'nın antioksidan özelliğinin yanı sıra aynı zamanda antikanserojenik (145), hepatoprotektif, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antimutajenik (146) ve nöroprotektif özelliklere de sahip olduğu bildirilmiştir (145, 147). Fakat, akut pankreatit üzerindeki olası etkileri henüz araştırılmamış ve mevcut bir literatür bilgisi bulunmamaktadır.

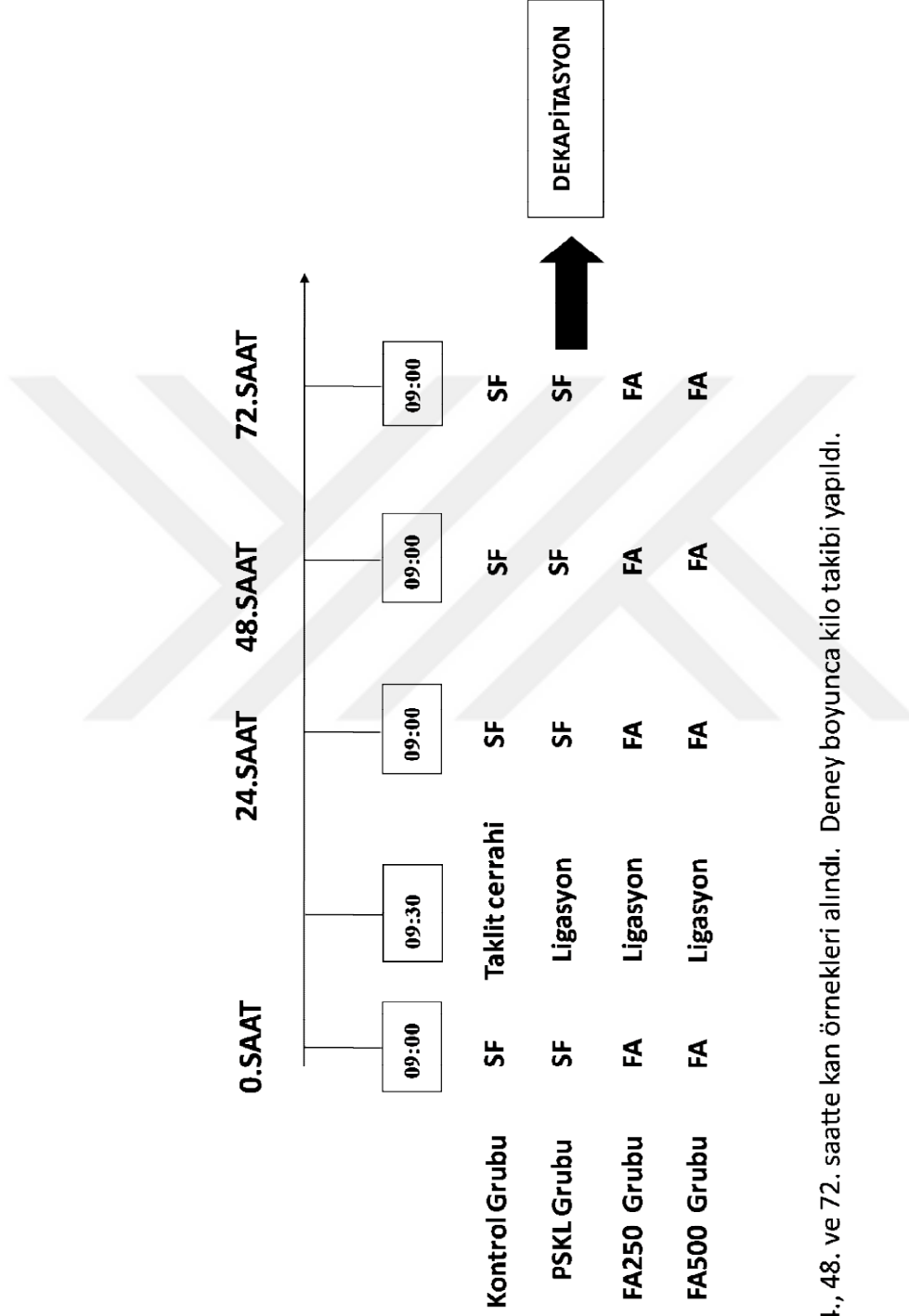
Bu bilgiler ışığında çalışmada FA'nın, AP'de antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin olup olmadığının, muhtemel antiinflamatuvar etkilerini nötrofil üzerinden gösterip göstermediğinin, pankreatik enzimlerin hiperaktivasyonunu engelleyip engellenmediğinin ve akut pankreatite bağlı pankreas hasarını, akciğer ve karaciğer gibi dokularda meydana gelen uzak doku hasarını mikroskopik düzeyde azaltıp azaltmadığının gösterilmesi amaçlanmaktadır.

5.GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmada Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden alınan 200-300 gr ağırlığında Erkek Wistar-Albino sıçanlar (n=46) kullanıldı. Hayvanlar 12 saat aydınlık/karanlık ışık düzeninde, sabit ısı (22 ± 1 °C) ve nem (%60-70) ortamında standart yem kullanılarak ad libitum beslendi. Çalışmaya başlamadan önce çalışmada yer alan tüm süreçler için Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı (Onay tarih ve numara: 15.11.2016 ACU/HADYEK 2016/36 – EK-1).

5.1. Deney Protokolü ve Grupları

Sıçanlar 20 saatlik gece açlığının ardından gruplara ayrıldı. Cerrahi işlemden 30 dakika önce ve 3 gün boyunca ilaç ya da çözücü oral gavaj yöntemi ile verildi. Taklit cerrahi uygulanan kontrol grubu dışında, tüm sıçanlara pankreas-safra kanal ligasyonu (PSKL) yapıldı. FA'nın pankreatit üzerindeki rolünü ve etkin dozunu belirlemek amacıyla iki grup oluşturularak sıçanlara 250 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarındaki FA (Acros Organics: Lot No:A0364870) 3 gün süreyle günde bir kez verildi. Pankreatit ve kontrol grubuna ise 3 gün boyunca günde bir kez fizyolojik tuzlu su (SF) verildi. Uygulanan deney protokolü Şekil 5.1.1'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



24., 48. ve 72. saatte kan örnekleri alındı. Deney boyunca kilo takibi yapıldı.

Şekil 5.1.1. Deney Protokolü

Protokole göre deney grupları aşağıdaki gibi oluşturulmuştur:

1.Kontrol Grubu (K) (n=10): Bu gruba, PSKL için yapılacak cerrahi girişimin kontrolü olarak anestezi altında taklit cerrahi uygulandı, cerrahi işlemden 30 dk. önce ve 3 gün boyunca SF 0,1 ml/100 gr olacak şekilde (ig) verildi.

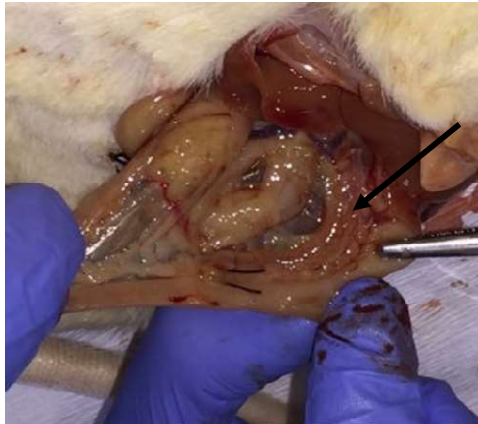
2.Pankreatit Grubu (PSKL) (n=12): Bu gruba, anestezi altında PSKL'den 30 dk. önce ve 3 gün boyunca SF (ig) uygulandı.

3.Ferulik Asit Grubu 250 mg (FA250) (n=12):Bu gruba, anestezi altında PSKL'den 30 dk. önce ve 3 gün boyunca 250 mg/kg FA (147) 1 ml SF içinde çözülerek günde bir kez (ig) olarak verildi.

4.Ferulik Asit Grubu 500 mg (FA500) (n=12): Bu gruba, anestezi altında PSKL'den 30 dk. önce ve 3 gün boyunca 500 mg/kg FA 1 ml SF içinde çözülerek günde bir kez (ig) verildi.

Pankreatit-Safra Kanal Ligasyonunun Uygulanması:

Ketamin ksilazin anestezisi altında orta hat kesisi yapıldıktan sonra mide altında pankreatik kanal tespit edildi. Kanal tespit edildikten sonra ince bağırsağa yakın taraftan 4.0 ipe üç kez düğümlendi. Derlenmeye yardımcı olmak amacıyla da tüm hayvanlara operasyon sonrası 1 ml/100gr olacak şekilde sıvı takviyesi (SF) yapıldı. Deney süresince hayvanların vücut ağırlıkları takip edildi.



Resim 5.1.1. Pankreas-safra kanal ligasyonu

PSKL uygulamasından sonra 24. saat, 48. saat ve 72. saatte tüm hayvanların jugular veninden kan örnekleri toplandı ve serumları ayrılarak saklandı. 72. saatte hayvanlar dekapite edilerek pankreas, karaciğer ve akciğer dokuları alındı.

Farklı zamanlarda toplanan serum örneklerinden ALP, ALT, AST, TB, pankreatik amilaz ve lipaz düzeyleri ölçüldü. Ayrıca 72. saatte alınan serumlardan proinflamatuvar sitokin olan TNF- α seviyeleri ölçüldü.

Doku hasarının değerlendirilmesi için toplanan doku örnekleri histolojik olarak incelenerek hasar bakımından skorlandı. Doku örneklerinde nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olan MPO aktivitesine, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesine ve endojen antioksidan olan GSH düzeyine bakıldı.

5.2. Serumda Pankreatik Amilaz ve Lipaz, ALT, AST, ALP ve TB Düzeyi Ölçümleri

Toplanan dokuların fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla pankreatik amilaz ve lipaz, ALT, AST ve TB düzeyleri ticari kit kullanılarak otoanalizör (Cobas 6000 C501 modülü ve Roche C501) yardımı ile kolorimetrik yöntemle ölçüldü.

5.3. Serumda TNF- α Düzeyi Ölçümü

72. saatte alınan kan örneklerinden elde edilen serumlardan, ticari ELISA kiti kullanılarak TNF- α seviyeleri üreticinin önerdiği manuele göre ölçüldü.

5.4. Doku Hasarının Değerlendirilmesi

Doku örnekleri %10'luk nötral formalinde fikse edildikten sonra %70, %90, %96, %100'lük alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilol ile şeffaflaştırıldıktan sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 μ m kalınlığında alınan pankreas, karaciğer ve akciğer kesitleri hematoksilin eozin ile boyandı. Boyanan kesitler ışık mikroskobu altında incelenerek hasar skoru aşağıdaki kriterlere göre yapıldı:

Pankreatit şiddeti aşağıdaki kriterler kullanılarak 0-3 arasında skorlandı (149):

- asiner hücre dejenerasyonu,
- interstisyel ödem,
- lökosit infiltrasyonu

Karaciğer hasarı, aşağıdaki kriterlere göre 0-3 arasında skorlandı (150):

- hepatosit dejenerasyonu,
- vakualizasyon
- konjesyon
- lökosit infiltrasyonu
- sinüzoidal dilatasyon
- Kupffer hücre genişlemesi

Akciğer hasarı, aşağıdaki kriterlere göre 0-3 arasında skorlandı (151):

- konjesyon
- alveoler yapısal bozulma,
- lökosit infiltrasyon
- genel ödem

Skorlar:

0, yok; 1, hafif derecede; 2, orta derecede; 3, şiddetli olacak şekilde değerlendirildi.

5.5. Dokuda MPO Ölçümü

Doku MPO aktivitesi, nötrofil infiltrasyonunu gösteren biyokimyasal bir parametredir. Bu amaçla pankreas, karaciğer ve akciğer doku örnekleri %0,5'lik HETAB (Heksadesiltrimetilamonyum bromide) (50mM potasyum fosfat tamponu içinde; pH:6) ile 10 kez sulandırılarak homojenize edilip, 12.000 rpm'de, 4C°'de 10 dk. santrifüj edildi. Elde edilen pelletten süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra 50 mM potasyum-fosfat tamponu içinde tekrar homojenize edildi. Daha sonra her bir tüpe 50 mM potasyum fosfat tamponu + o-dianisidin. 2HCl (20 mg/ml) + H₂O₂ (20 mM) + örnek konuldu ve su banyosunda 37°C'de 3 dk. süren reaksiyon %2'lik sodyum azid

ile durduruldu. Örnekler 5.000 rpm'de 4°C'de 15 dk. santrifüj edildikten sonra süpernatantlar abzorban değerleri 460 nm'de okundu (152).

5.6. Dokuda MDA Düzeyi Ölçümü

Oksidan hasarın bir göstergesi olan MDA düzeyinin ölçüldüğü bu yöntemde, doku örnekleri ağırlıklarının 10 katına denk gelen miktarda %10'luk triklorik asit solüsyonu ile homojenize edildikten sonra 3.000 rpm'de ve 4 °C'de 15 dk. santrifüj edildi. Süpernatantlar ayrılarak bir kez daha 10.000 rpm'de 8 dk. santrifüj edildi. 750 µl tiyobarbitürik asit ile 750 µl miktardaki örnekler cam tüplerde 20 dk. boyunca kaynatılarak elde edilen renk değişimi spektrofotometrede 535 nm'de ölçülerek ve $1.56 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ katsayısı ile lipid peroksidasyon düzeyi MDA cinsinden belirlendi (153).

5.7. Dokuda GSH Düzeyi Tayini

Dokudaki endojen antioksidan GSH miktarının ölçüldüğü bu yöntemde, doku örnekleri ağırlıklarının 10 katına denk gelen miktarda %10'luk triklorik asit solüsyonu ile homojenize edildikten sonra 3.000 rpm'de ve 4 °C'de 15 dk. santrifüj edildi. Süpernatantlar ayrılarak 10.000 devirde 8 dk. daha santrifüj edildi. Modifiye Ellman yöntemi (40 mg DTNB + %1 Na sitrat) kullanılarak GSH miktarı spektrofotometrik olarak 412 nm'de ölçülerek belirlendi (154).

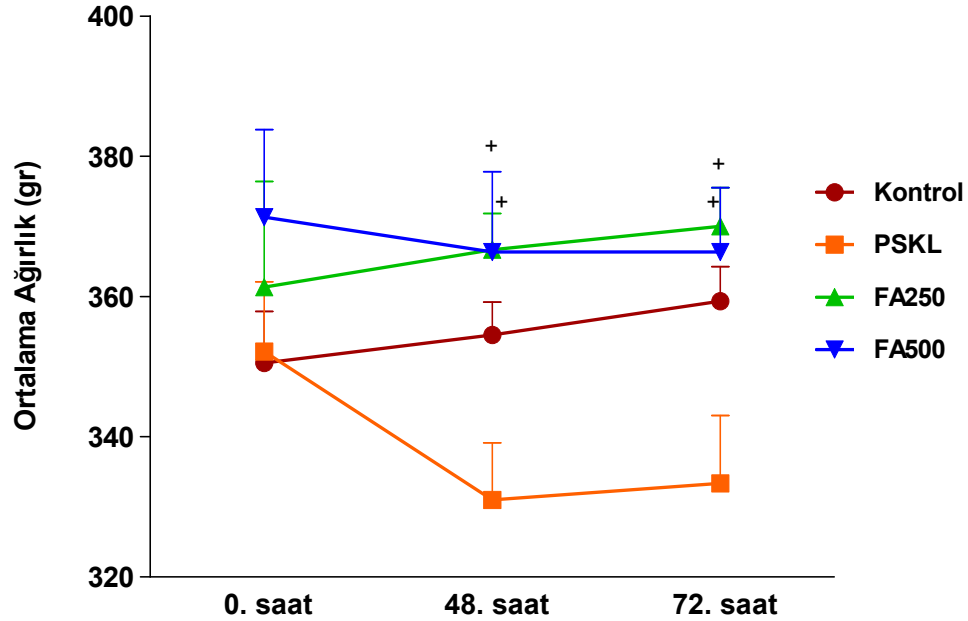
5.8. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Parametrelerin değerlendirilmesinde tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi ve Student t testi kullanıldı. P değerinin 0,05'ten küçük olması durumunda veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Ortalama Ağırlık Takibi

Deneyin başlangıcında gruplar arasında ortalama ağırlık bakımından herhangi bir fark yoktu. 48. saatte PSKL grubunda ortalama ağırlıkta düşüş gözlenirken, FA 250 ve 500 mg/kg ile tedavi edilen gruplarda anlamlı bir kilo kaybı gözlenmedi. 48. saatte her iki doz ile tedavi alan grupların ortalama ağırlıkları (sırasıyla $366,66 \pm 5,16$ g; $p < 0,05$ ve $366,33 \pm 11,45$ g) PSKL grubuna ($334,33 \pm 7,96$ g) kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,05$). Aynı zamanda, PSKL grubuna ait 2 hayvan eks oldu ve değerlendirilmeden çıkarıldı. 72. saatte PSKL grubu başlangıca göre daha düşük ağırlıkta devam ederken tedavi grupları ortalama ağırlıkları bakımından başlangıca göre farklı değildi. 72. Saatte tedavi grupları PSKL grubuna göre (sırasıyla $370 \pm 5,50$ g; $p < 0,05$ ve $366,33 \pm 9,22$ g; $p < 0,05$) daha yüksek ortalama ağırlığa sahipti. Kontrol grubu ise, deney boyunca normal bir şekilde kilo alımına devam etti (Şekil 6.1.1).



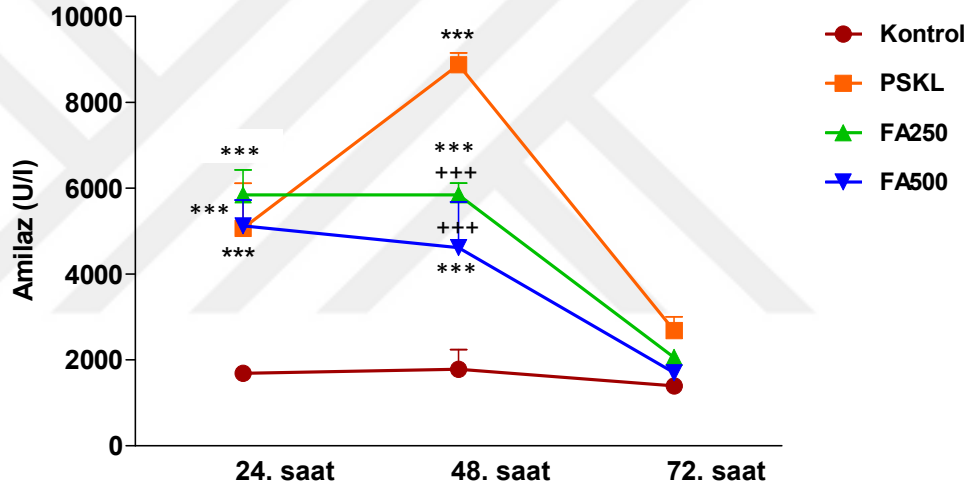
Şekil 6.1.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarının (FA250; n=12, FA500; n=12) ortalama ağırlıkları.

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. ⁺p<0,05, PSKL grubuna kıyasla.

6.2. Serumda Pankreatik Amilaz ve Lipaz, ALT, AST, ALP ve TB Düzeyi

6.2.1. Pankreatik amilaz düzeyi

PSKL grubunda serum amilaz düzeyi 24. ve 48. saatte (sırasıyla $5068,92 \pm 1045,5$ U/l; $p < 0,001$ ve $8872,8 \pm 277,73$ U/l; $p < 0,001$) kontrol grubuna kıyasla ($1685,5 \pm 136,77$ U/l ve $1781,3 \pm 456,12$ U/l) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. FA250 ve FA500 gruplarında ise 48. saatte amilaz düzeyinin (sırasıyla $5840,2 \pm 276,29$ U/l; $p < 0,001$ ve $4616,48 \pm 1063,17$ U/l), PSKL grubuna kıyasla anlamlı şekilde düştüğü gözlemlendi ($p < 0,001$) (Şekil 6.2.1.1).

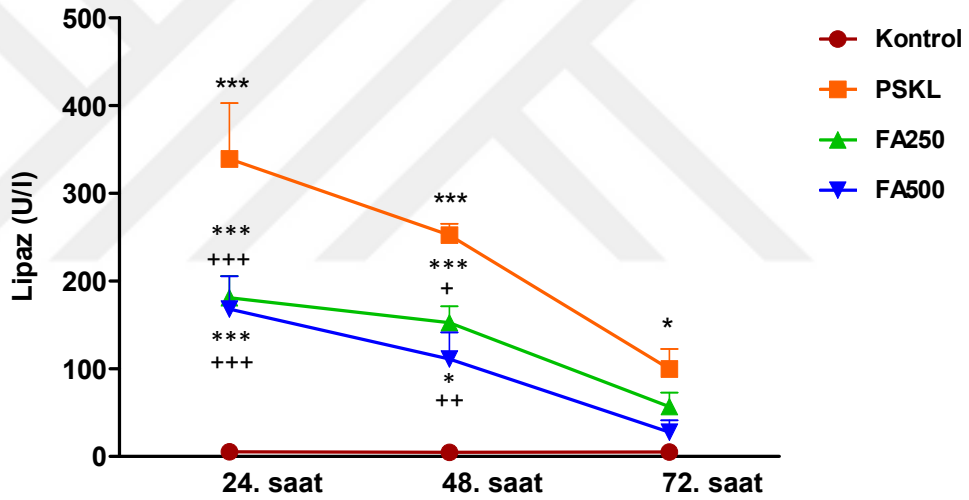


Şekil 6.2.1.1 Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarının (FA250; n=12, FA500; n=12) serum amilaz düzeyi.

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. *** $p < 0,001$, kontrol grubuna kıyasla; +++ $p < 0,001$, PSKL grubuna kıyasla.

6.2.2. Pankreatik lipaz düzeyi

PSKL grubunda serum lipaz düzeyi 24., 48. ve 72. saatte (sırasıyla $339 \pm 63,75$ U/l; $p < 0,001$, $252,4 \pm 12,88$ U/l; $p < 0,001$ ve $99,8 \pm 22,96$ U/l; $p < 0,05$), kontrol grubuna kıyasla ($5,4 \pm 0,24$ U/l, $5 \pm 0,32$ U/l ve $5,2 \pm 0,2$ U/l) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. 24. saatte 250 mg/kg FA ($181 \pm 24,7$ U/l; $p < 0,001$) ve 500 mg/kg tedavi alan gruplarda ($168,2 \pm 37$ U/l; $p < 0,001$) serum lipaz düzeyi, PSKL grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulundu. 48. saatte ise 250 mg/kg FA ($152,4 \pm 18,67$ U/l; $p < 0,5$) ve 500 mg/kg tedavili grupta ($111 \pm 30,51$ U/l; $p < 0,01$) lipaz düzeyi, PSKL grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde daha düşüktü (Şekil 6.2.2.1).



Şekil 6.2.2.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavili grupların (FA250; n=12, FA500; n=12) serum lipaz düzeyi.

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. *** $p < 0,001$ ve * $p < 0,05$, kontrol grubuna kıyasla; +++ $p < 0,001$, ++ $p < 0,01$ ve + $p < 0,05$, PSKL grubuna kıyasla.

6.2.3. ALT düzeyi

PSKL grubunda serum ALT düzeyi 24., 48. ve 72. saatte (sırasıyla $378,75 \pm 78,95$ IU/l; $p < 0,01$, $965,75 \pm 137,29$ IU/l; $p < 0,001$ ve $354,75 \pm 99,32$ IU/l; $p < 0,001$), kontrol grubuna kıyasla (sırasıyla $86,6 \pm 6,41$ IU/l, $74,8 \pm 8,57$ IU/l ve $49,2 \pm 3,29$ IU/l) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. ALT düzeyi FA500 grubunda 48. saatte ($644,25 \pm 47,36$ IU/l) PSKL grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük saptandı ($p < 0,01$) (Tablo 6.2.3.1).

Tablo 6.2.3.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarının (FA250; n=12, FA500; n=12) serum ALT düzeyleri.

Alanin aminotransferaz (IU/l)			
	24. saat	48. saat	72. saat
Kontrol	$86,6 \pm 6,41$	$74,8 \pm 8,57$	$49,2 \pm 3,29$
PSKL	$378,75 \pm 78,95^{**}$	$965,75 \pm 137,29^{***}$	$354,75 \pm 99,32^{**}$
FA 250	$403,4 \pm 18,22^{**}$	$770 \pm 31,85^{***}$	$303,4 \pm 74,95^{**}$
FA 500	$372,25 \pm 67,33^{**}$	$644,25 \pm 47,36^{*** ++}$	$211,75 \pm 66,7$

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. $^{**} p < 0,05$ ve $^{***} p < 0,001$, kontrol grubuna kıyasla; $^{++} p < 0,01$, PSKL grubuna kıyasla.

6.2.4. AST düzeyi

Serum AST düzeyi PSKL grubunda 48. ve 72. saatte (sırasıyla $1298 \pm 291,71$ IU/l; $p < 0,001$ ve $575 \pm 144,34$ IU/l; $p < 0,01$) kontrol grubuna kıyasla ($279,8 \pm 46,59$ IU/l ve $118,4 \pm 12,32$ IU/l) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. FA250 grubu 48. saatte ($941,2 \pm 55,86$ IU/l) PSKL grubuna kıyasla serum AST düzeyini anlamlı şekilde düşürdü ($p < 0,05$). FA500 grubu da hem 48. ve hem de 72. saatte (sırasıyla $831,6 \pm 87,55$ IU/l; $p < 0,01$ ve $228,4 \pm 30,69$ IU/l; $p < 0,05$) PSKL grubuna kıyasla daha düşük serum düzeylerine sahipti (Tablo 6.2.4.1.).

Tablo 6.2.4.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavili grupların (FA250; n=12, FA500; n=12) serum AST düzeyleri.

	Aspartat aminotransferaz (IU/l)		
	24. saat	48. saat	72. saat
Kontrol	$423,2 \pm 36,38$	$279,8 \pm 46,59$	$118,4 \pm 12,32$
PSKL	$687,75 \pm 52,58$	$1298 \pm 291,71^{***}$	$575 \pm 144,34^{**}$
FA 250	$712 \pm 29,64$	$941,2 \pm 55,86^{***+}$	$531 \pm 103,30^{**}$
FA 500	$549,4 \pm 45,17$	$831,6 \pm 87,55^{***++}$	$228,4 \pm 30,69^{+}$

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. $^{**}p < 0,05$ ve $^{***}p < 0,001$, kontrol grubuna kıyasla; $^{+}p < 0,05$ ve $^{++}p < 0,01$, PSKL grubuna kıyasla.

6.2.5. ALP düzeyi

Serum ALP düzeyi PSKL grubunda 24., 48. ve 72. saatte ($1228 \pm 98,15$ IU/l; $p < 0,001$, $832,2 \pm 34$ IU/l; $p < 0,001$ ve $542,4 \pm 2,82$ IU/l; $p < 0,001$) kontrol grubuna kıyasla ($164 \pm 10,42$ IU/l, $145,4 \pm 9,98$ IU/l ve $145,2 \pm 11,91$ IU/l) anlamlı bir şekilde yüksek saptandı. Yalnızca 500 mg/kg tedavisi 24. saatte ($1023 \pm 122,22$ IU/l) PSKL grubuna kıyasla serum ALP düzeyini düşürdü ($p < 0,05$) (Tablo 6.2.5.1).

Tablo 6.2.5.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavili grupların (FA250; n=12, FA500; n=12) serum serum ALP düzeyleri.

	Alanin fosfataz (IU/l)		
	24. saat	48. saat	72. saat
Kontrol	$164 \pm 10,42$	$145,4 \pm 9,98$	$145,2 \pm 11,91$
PSKL	$1228 \pm 98,15^{***}$	$832,2 \pm 34^{***}$	$542,4 \pm 2,82^{***}$
FA 250	$1072,4 \pm 90,96^{***}$	$685,8 \pm 39,87^{***}$	$515,2 \pm 31,99^{***}$
FA 500	$1023 \pm 122,22^{***+}$	$660,4 \pm 13,48^{***}$	$446 \pm 16,33^{**}$

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. $^{***}p < 0,001$, kontrol grubuna kıyasla; $^{+}p < 0,05$, PSKL grubuna kıyasla.

6.2.6. TB düzeyi

Serum TB düzeyi PSKL grubunda 24., 48. ve 72. saatte ($4,63 \pm 0,07$ IU/l; $p < 0,001$, $7,69 \pm 0,28$ IU/l; $p < 0,001$ ve $7,95 \pm 0,78$ IU/l; $p < 0,001$) kontrol grubuna kıyasla ($0,148 \pm 0,01$ IU/l, $0,136 \pm 0,01$ IU/l ve $0,092 \pm 0,02$ IU/l) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. FA250 ve FA500 gruplarının her ikisinde de 72. saatte (sırasıyla $4,07 \pm 1,81$ IU/l; $p < 0,001$ ve $1,54 \pm 0,34$ IU/l; $p < 0,001$) PSKL grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde azalma vardı (Tablo 6.2.6.1).

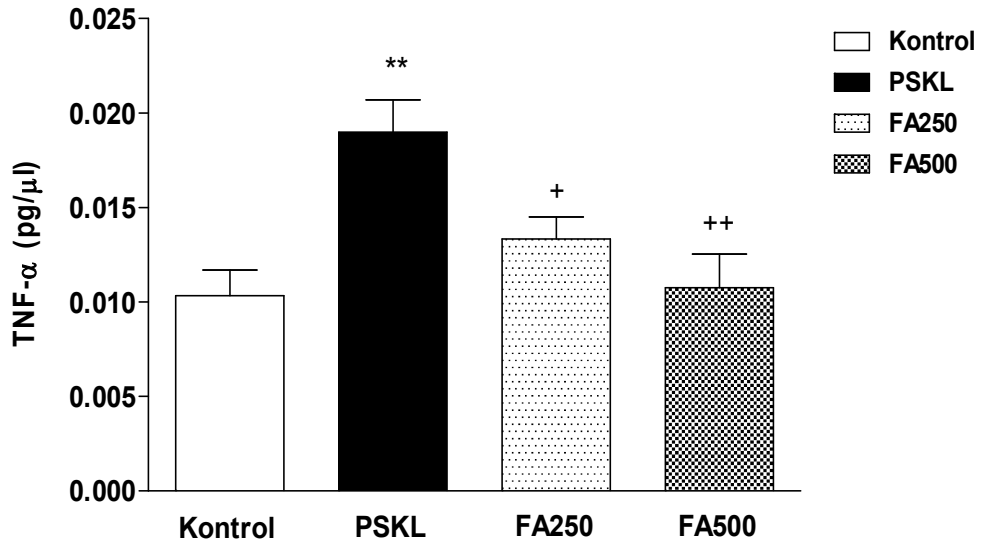
Tablo 6.2.6.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavili grupların (FA250; n=12, FA500; n=12) serum TB düzeyleri.

	Total Bilirubin (mg/dl)		
	24. saat	48. saat	72. saat
Kontrol	$0,148 \pm 0,01$	$0,136 \pm 0,01$	$0,092 \pm 0,02$
PSKL	$4,63 \pm 0,07^{***}$	$7,69 \pm 0,28^{***}$	$7,95 \pm 0,78^{***}$
FA 250	$4,25 \pm 0,28^{***}$	$7,404 \pm 0,76^{***}$	$4,07 \pm 1,81^{***+++}$
FA 500	$4,64 \pm 0,23^{***}$	$8,07 \pm 0,37^{***}$	$1,54 \pm 0,34^{+++}$

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. ^{***} $p < 0,001$, kontrol grubuna kıyasla; ⁺⁺⁺ $p < 0,001$, PSKL grubuna kıyasla.

6.3. Serumda TNF- α Düzeyi Ölçümü

PSKL ile akut pankreatit oluşturulmuş ve serum fizyolojik verilmiş grupta, serum TNF- α düzeyi (0,019), kontrol grubuna kıyasla (0,0103) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. FA'nın 250 ve 500 mg/kg dozlarıyla tedavi edilen gruplarda (sırasıyla 0,0133; $p < 0,05$ ve 0,0107; $p < 0,01$) TNF- α düzeyinin kontrol seviyelerine yakın bir biçimde geri döndüğü görüldü (Şekil 6.3.1).



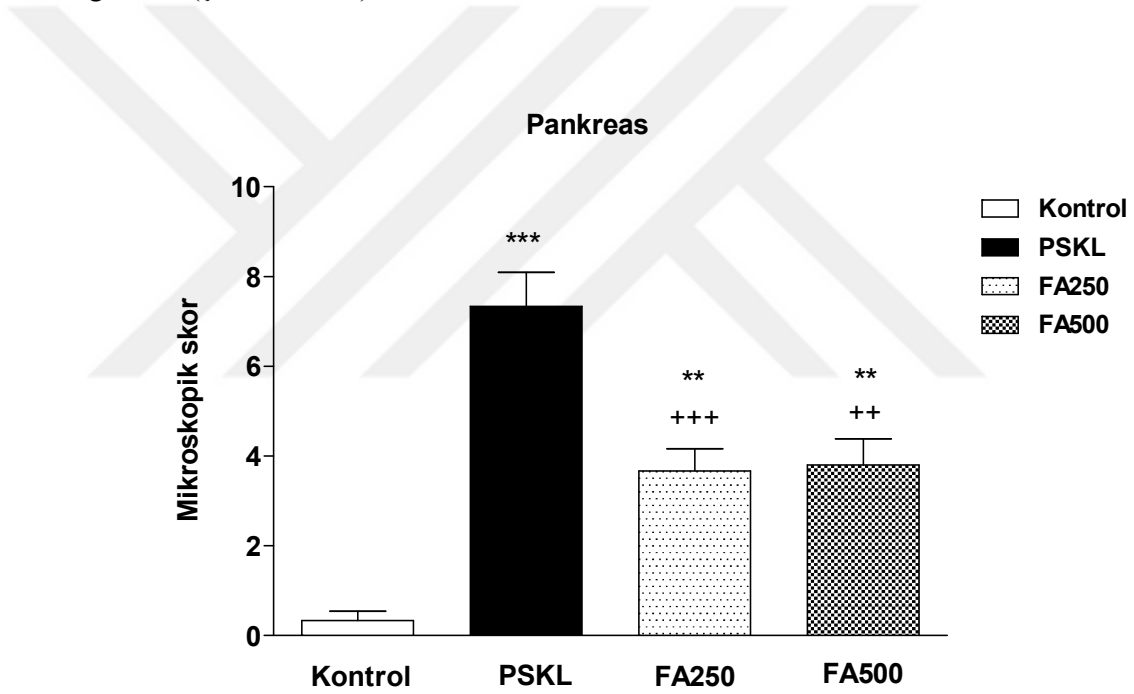
Şekil 6.3.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarının (FA250; n=12, FA500; n=12) serum TNF- α düzeyleri.

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. ** $p < 0,01$, kontrol grubuna kıyasla; + $p < 0,05$ ve ++ $p < 0,01$ PSKL grubuna kıyasla.

6.4.Histolojik Değerlendirilme ve Mikroskopik Skor

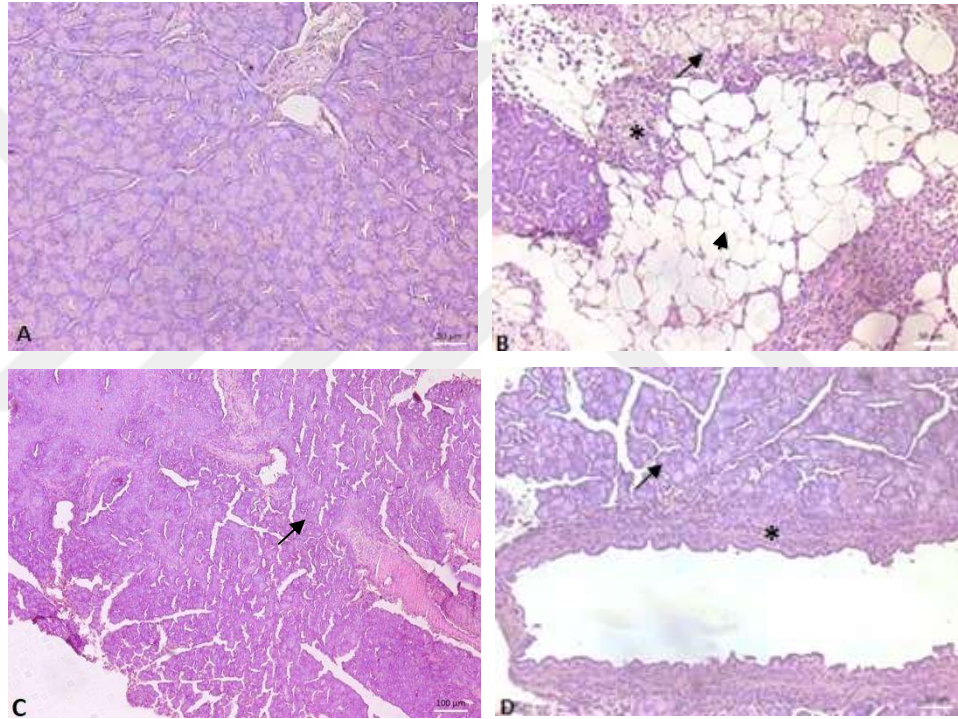
6.4.1. Pankreas dokusu

Pankreasta doku hasarı hematoksilin-eozin boyama ile mikroskop altında asiner hücre dejenerasyonu, interstisyel ödem ve lökosit infiltrasyonu yönünden değerlendirildi. Buna göre; PSKL grubunda doku hasarının ($7,33 \pm 0,76$), kontrol grubuna kıyasla ($0,33 \pm 0,21$) belirgin bir şekilde yüksek olduğu görüldü ($p < 0,001$). FA 250 ve 500 mg/kg dozları ile tedavide ise, PSKL grubuna kıyasla ($3,66 \pm 0,5$; $p < 0,001$ ve $3,8 \pm 0,58$; $p < 0,01$), doku hasar skorunun anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (Şekil 6.4.1.1.).



Şekil 6.4.1.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) pankreas mikroskopik skor düzeyleri. PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. ** $p < 0,05$ ve *** $p < 0,001$, kontrol grubuna kıyasla; ++ $p < 0,01$ ve +++ $p < 0,001$ PSKL grubuna kıyasla.

Pankreas doku preparatları incelendiğinde; kontrol grubundaki dokular, normal yapıyı yansıtmakta ve normal pankreas parenkiması izlenmekteydi. PSKL grubunda, pankreas parenkimasında asinoslarda yoğun harabiyet ile parenkima kaybı (↗) ve interlobüler alanda ödem (▼) ve lökosit infiltrasyonu (*) gözlemlendi. 250 ve 500 mg/kg FA ile tedavi gruplarında ise PSKL grubuna göre pankreas parenkimasında asinus yapılarında daha hafif harabiyetin ve interlobüler alanda daha hafif ödem ve daha az lökosit infiltrasyonu izlendi.



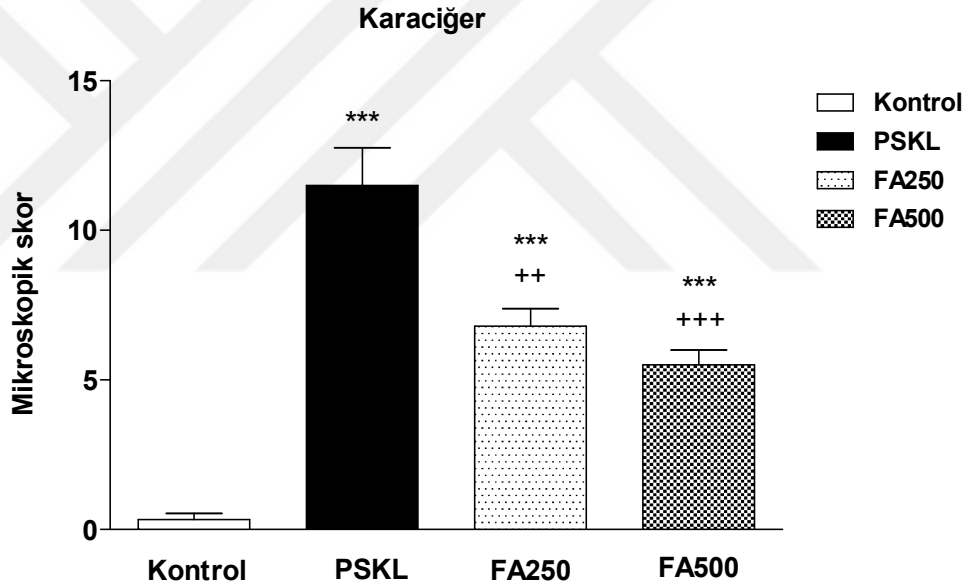
Resim 6.4.1.1.Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarına ait pankreas kesitinin histolojik görünümü

.A, kontrol grubu; B, Pankreas safra kanal ligasyonu; C, Ferulik Asit 250 mg/kg; D, Ferulik Asit 500 mg/kg.

Asinoslarda harabiyet (↗), interlobüler alanda ödem (▼) ve lökosit infiltrasyonu (*) görülmektedir. H&E boyası, orijinal büyütme: X200.

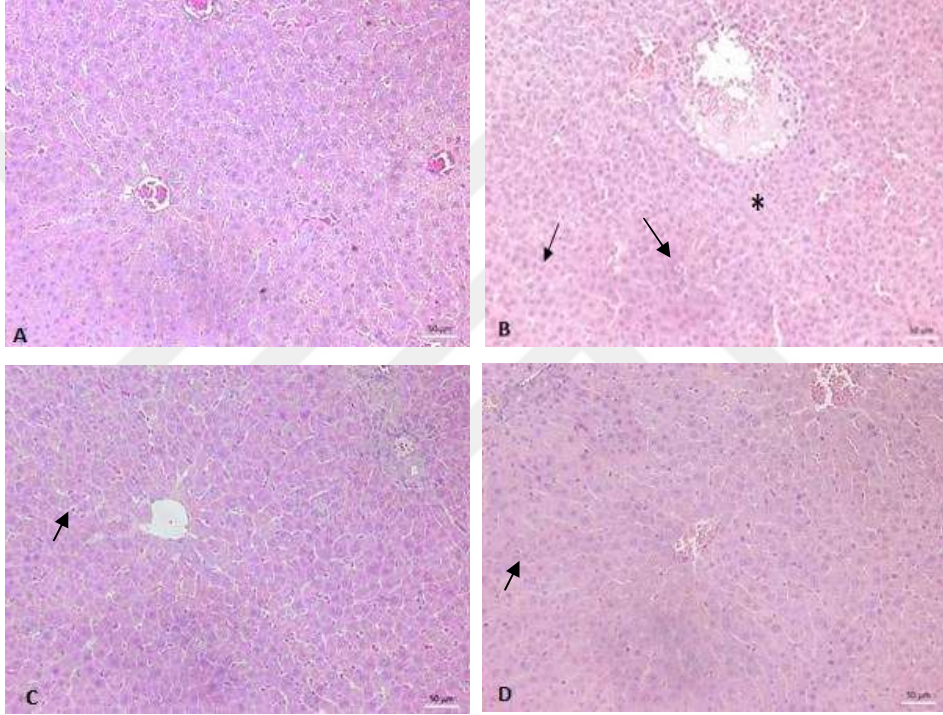
6.4.2. Karaciğer dokusu

Karaciğer örneklerinde ise kontrol grubu ($0,33 \pm 0,21$) ile karşılaştırıldığında PSKL grubunda ($11,5 \pm 1,26$) şiddetli hepatosit dejenerasyonu, vakualizasyon, konjesyon, lökosit infiltrasyonu, sinüzoidal dilatasyon ve kupffer hücre genişlemesi gözlenmekteydi ve mikroskopik hasar skoru belirgin bir şekilde yüksekti ($p < 0,001$). Bu doku hasarının antioksidan FA 250 ve 500 mg/kg tedavisi ile PSKL grubuna kıyasla (sırasıyla $6,8 \pm 0,6$; $p < 0,01$ ve $5,5 \pm 0,5$; $p < 0,001$), belirgin bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Ayrıca FA 500 mg/kg dozunun 250 mg/kg'a göre daha belirgin bir şekilde hasar skorunu azalttığı görüldü (Şekil 6.4.2.1.).



Şekil 6.4.2.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) karaciğer mikroskopik skor düzeyleri. PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. *** $p < 0,001$, kontrol grubuna kıyasla; ** $p < 0,01$ ve +++ $p < 0,001$ PSKL grubuna kıyasla.

Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde normal yapı ve karaciğer parenkiması izlendi. PSKL grubunda, karaciğer parenkimasında hepatositlerde vakuolizasyon (↗), sinüzoidlerde genişleme, damar yapılarında vazokojesyon ve periportal alanda yoğun lökosit infiltrasyonu (*) izlendi. FA250 ve FA500 gruplarında ise hepatositlerde daha hafif vakuolizasyon izlenirken, yer yer vazokonjesyon ve sinüzoid yapılarında hafif genişleme izlendi.



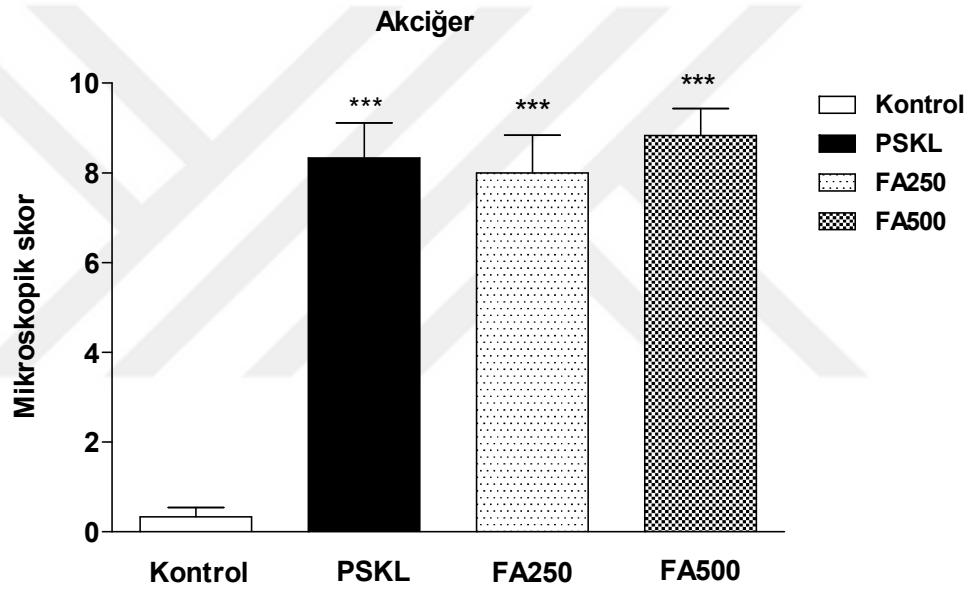
Resim 6.4.2.1.Kontrol, PSKL ve tedavili gruplara ait karaciğer kesitinin histolojik görünümü.

A, kontrol grubu; B, Pankreas safra kanal ligasyonu; C, Ferulik Asit 250 mg/kg; D, Ferulik Asit 500 mg/kg.

Hepatositlerde vakuolizasyon (↗) ve lökosit infiltrasyonu (*) görülmektedir. H&E boyası, orijinal büyütme: X200.

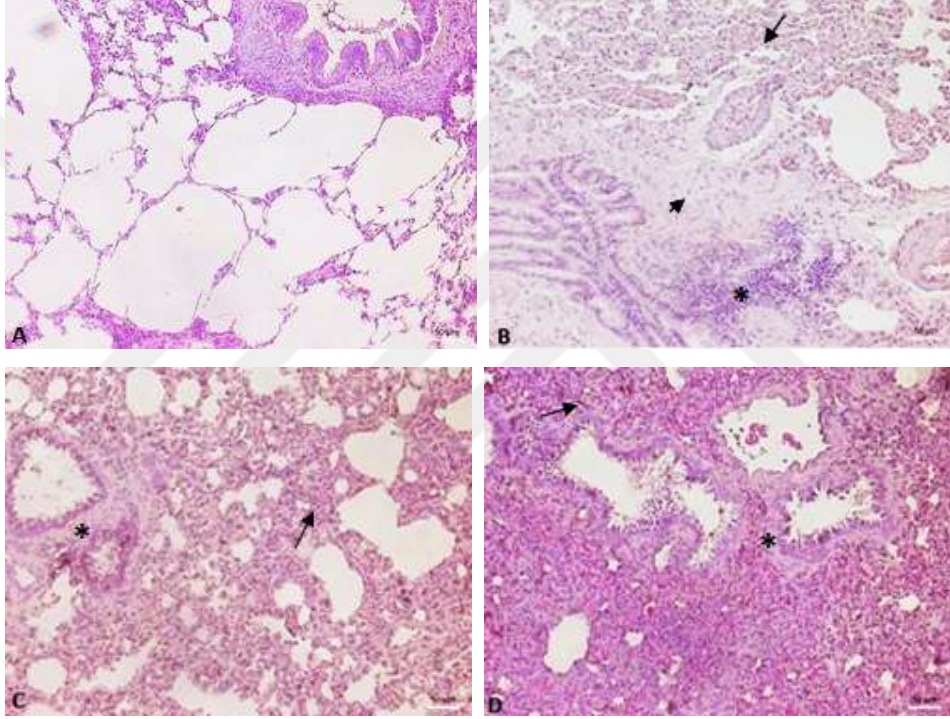
6.4.3. Akciğer Dokusu

Konjesyon, alveoler yapısal bozulma, lökosit infiltrasyon ve genel ödem yönünden değerlendirilen akciğer örneklerinde PSKL grubunda ($8,33 \pm 0,78$) mikroskobik hasarın kontrol grubuna ($0,33 \pm 0,21$) kıyasla anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görüldü ($p < 0,001$). 250 mg/kg ($8 \pm 0,83$) ve 500 mg/kg ($8,83 \pm 0,6$) FA tedavisi alan gruplarda ise, PSKL grubuna kıyasla doku hasarında bir iyileşme görülmedi (Şekil 6.4.3.1.).



Şekil 6.4.3.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) akciğer mikroskopik skor düzeyleri. PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. *** $p < 0,001$, kontrol grubuna kıyasla.

Kontrol grubuna ait akciğer örneklerinde normal yapı ve akciğer parenkiması gözlenirken, PSKL grubu örneklerinde ise alveol yapısında birleşme ve bozulma (↗), lökosit infiltrasyonu (*), vazokonjesyon ve ödem (▼) izlendi. FA 250 ve 500 mg/kg ile tedavi edilen her iki grupta da alveolar yapıda bozulma, lökosit infiltrasyonu, vazokonjesyon ve ödem izlendi. Tedavili gruplarda doku hasarında bir iyileşme gözlenmedi.



Resim 6.4.3.1.Kontrol, PSKL ve tedavili gruplara ait akciğer kesitinin histolojik görünümü.

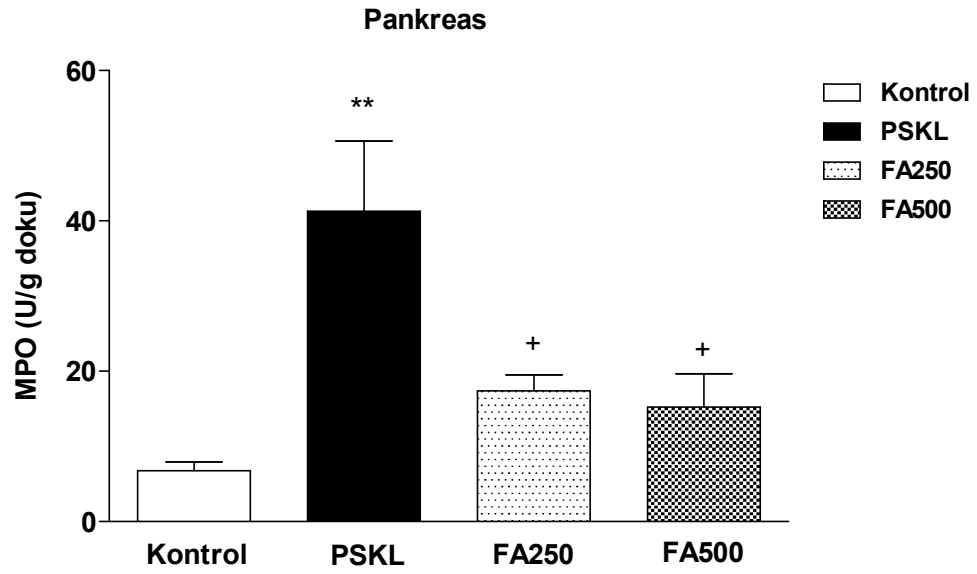
A, kontrol grubu; B, Pankreas safra kanal ligasyonu; C, Ferulik Asit 250 mg/kg; D, Ferulik Asit 500 mg/kg.

Alveol yapısında birleşme ve bozulma (↗), lökosit infiltrasyonu (*) ve ödem (▼) görülmektedir. H&E boyası, orijinal büyütme: X200.

6.5. Dokuda MPO Düzeyleri

6.5.1. Pankreas dokusu MPO düzeyleri

PSKL grubundaki pankreas dokularında nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olan MPO düzeyleri ($41,3 \pm 9,32$ U/g), kontrol grubuna kıyasla ($6,78 \pm 1,19$ U/g; $p<0,01$) yüksekti. FA250 ve FA500 gruplarında ise MPO düzeylerinin PSKL grubuna göre (sırasıyla $17,39 \pm 2,15$ U/g; $p<0,05$ ve $15,23 \pm 4,43$ U/g; $p<0,05$) anlamlı olarak düştüğü saptandı (Şekil 6.5.1.1.).

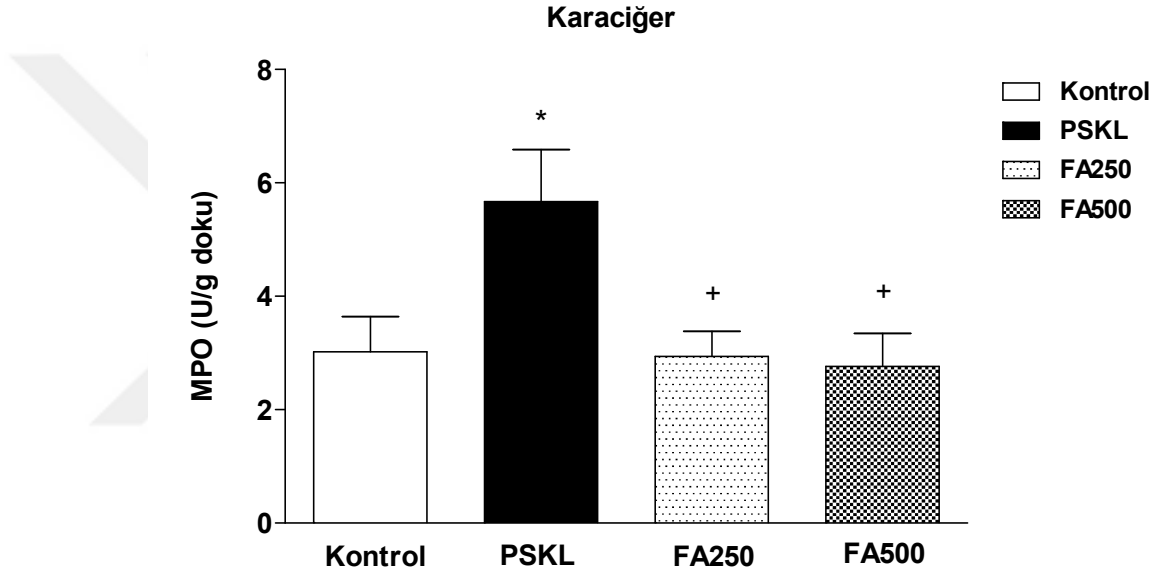


Şekil 6.5.1.1. Kontrol, PSKL ve tedavi gruplarında pankreas miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi.

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. ** $p<0,01$ kontrol grubuna kıyasla; + $p<0,05$ PSKL grubuna kıyasla.

6.5.2. Karaciğer dokusu MPO düzeyleri

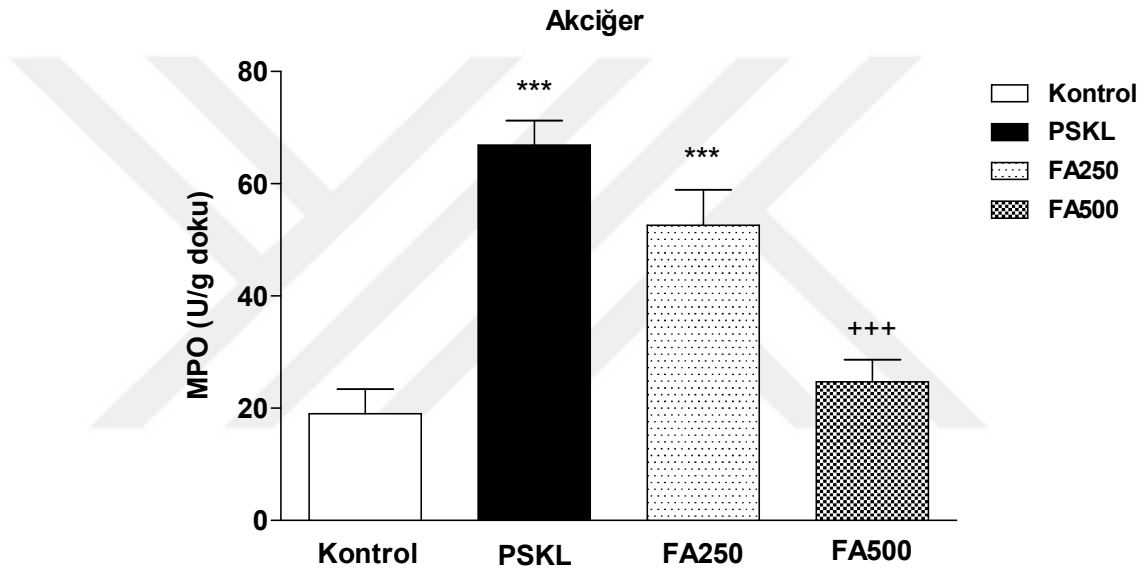
Karaciğer dokusunda da PSKL grubundaki MPO aktivitesi ($5,67 \pm 0,92$ U/g), kontrol grubuna kıyasla ($3,02 \pm 0,62$ U/g; $p<0,05$) belirgin bir şekilde yüksek ölçüldü. 250 mg/kg ve 500 mg/kg FA tedavileri MPO düzeylerini PSKL grubuna göre (sırasıyla $2,94 \pm 0,44$ U/g; $p<0,05$ ve $2,76 \pm 0,59$ U/g; $p<0,05$) belirgin şekilde düşürdü ve tedavi gruplarında kontrole yakın değerler ölçüldü (Şekil 6.5.2.1.).



Şekil 6.5.2.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) karaciğer miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi. PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. * $p<0,05$ kontrol grubuna kıyasla; + $p<0,05$ PSKL grubuna kıyasla.

6.5.3. Akciğer dokusu MPO düzeyleri

PSKL grubunda ortalama akciğer MPO aktivitesi ($66,9 \pm 4,37$ U/g), kontrol grubuna kıyasla ($19,03 \pm 4,36$ U/g; $p < 0,001$) yüksek bulundu. 500 mg/kg FA tedavisi MPO düzeyini PSKL grubuna kıyasla ($24,69 \pm 3,97$ U/g; $p < 0,001$) anlamlı olarak kontrole yakın değerlere düşürürken, 250 mg/kg FA tedavisi ($52,61 \pm 6,32$ U/g) etkili bulunmadı (Şekil 6.5.3.1.).



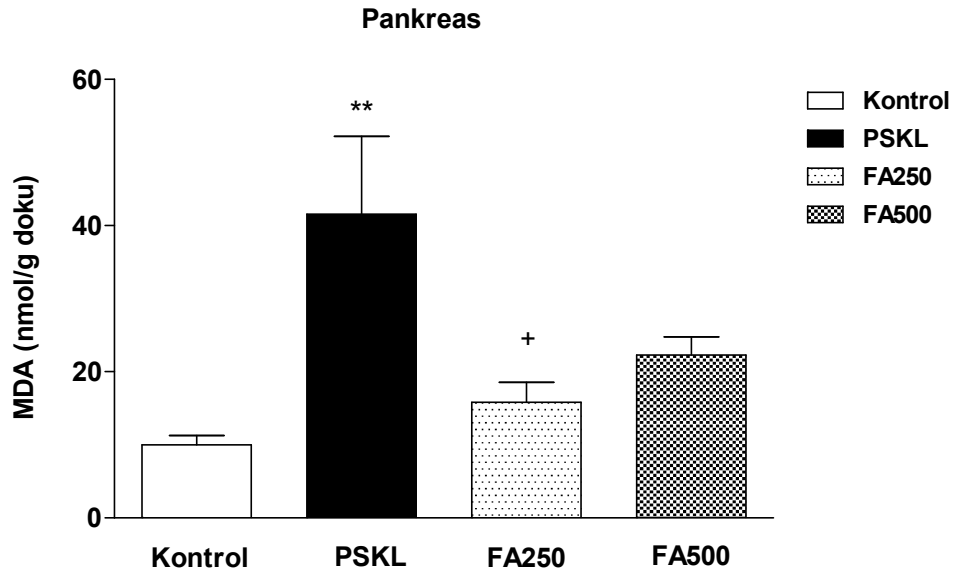
Şekil 6.5.3.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) akciğer miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi.

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. *** $p < 0,001$ kontrol grubuna kıyasla; +++ $p < 0,001$ PSKL grubuna kıyasla.

6.6. Dokuda MDA Düzeylerinin Değerlendirilmesi

6.6.1. Pankreas dokusu MDA düzeyleri

PSKL grubunun pankreas dokusunda lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri ($41,55 \pm 10,67$ nmol/g) kontrol grubuna kıyasla ($9,96 \pm 1,3$ nmol/g) anlamlı bir şekilde yüksekti ($p < 0,01$). MDA düzeyleri yalnızca FA 250 mg/kg tedavi alan grupta ($15,8 \pm 2,76$ nmol/g; $p < 0,05$) anlamlı düşüşe neden olurken, FA 500 mg/kg tedavi alan grupta ($22,27 \pm 2,47$ nmol/g) PSKL grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 6.6.1.1.).

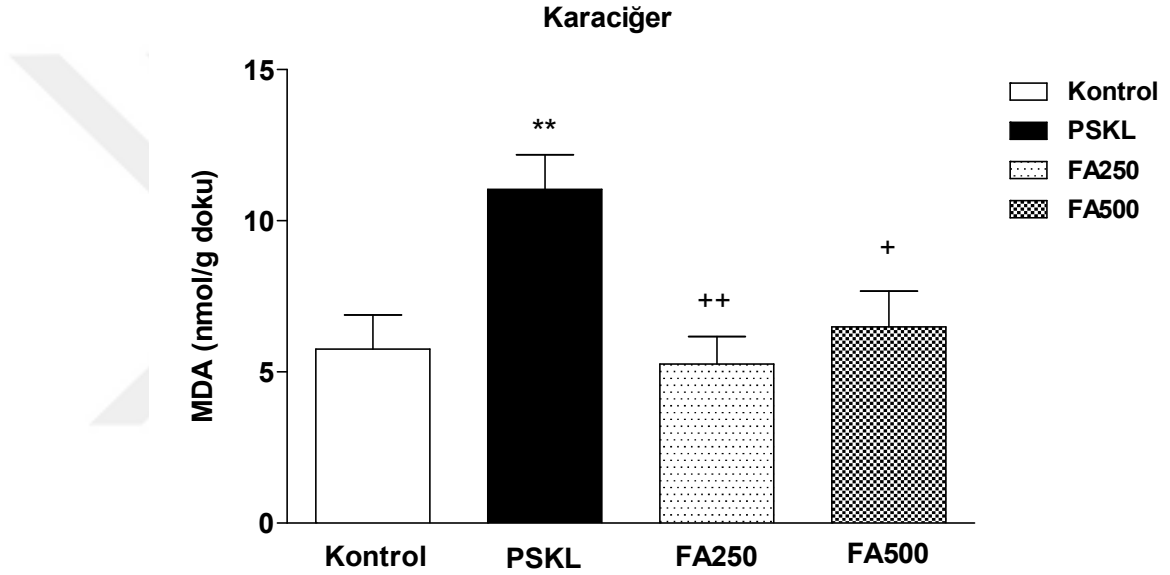


Şekil 6.6.1.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) pankreas malondialdehit (MDA) aktivitesi.

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. * $p < 0,05$, kontrol grubuna kıyasla; + $p < 0,05$, PSKL grubuna kıyasla.

6.6.2. Karaciğer dokusu MDA düzeyleri

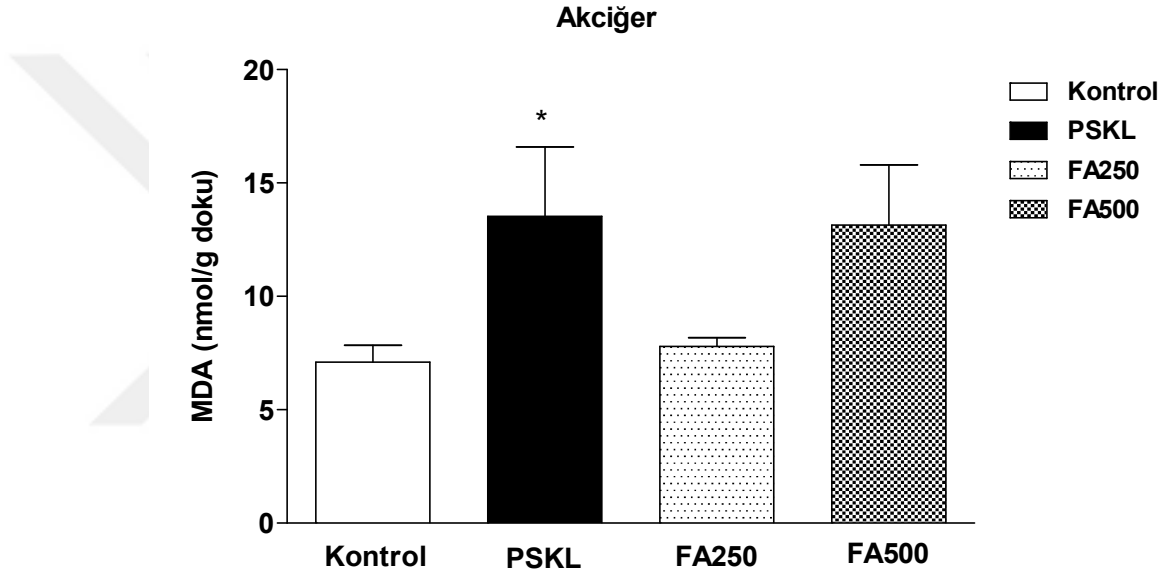
PSKL grubunda karaciğer MDA düzeyleri ($11,04 \pm 1,14$ nmol/g; $p < 0,01$), kontrol grubuna göre ($5,76 \pm 1,12$ nmol/g) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. FA250 ve FA500 gruplarında ise MDA düzeylerinin (sırasıyla $5,26 \pm 0,91$ nmol/g; $p < 0,01$ ve $6,5 \pm 1,18$ nmol/g; $p < 0,05$) PSKL grubuna göre anlamlı bir şekilde düştüğü gözlemlendi (Şekil 6.6.2.1.).



Şekil 6.6.2.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) karaciğer malondialdehit (MDA) aktivitesi. PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. ** $p < 0,01$, kontrol grubuna kıyasla; ++ $p < 0,01$ ve + $p < 0,05$, PSKL grubuna kıyasla.

6.6.3. Akciğer dokusu MDA düzeyleri

PSKL grubunun akciğer dokularında MDA düzeyleri ($13,53 \pm 3,06$ nmol/g; $p < 0,05$), kontrol grubuna göre ($7,1 \pm 0,75$ nmol/g) anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. FA250 mg/kg ($7,79 \pm 0,38$ nmol/g) ve FA500 mg/kg ($13,14 \pm 2,66$ nmol/g) gruplarında ise MDA düzeyleri bakımından PSKL grubuna göre bir fark görülmedi. (Şekil 6.6.3.1.).

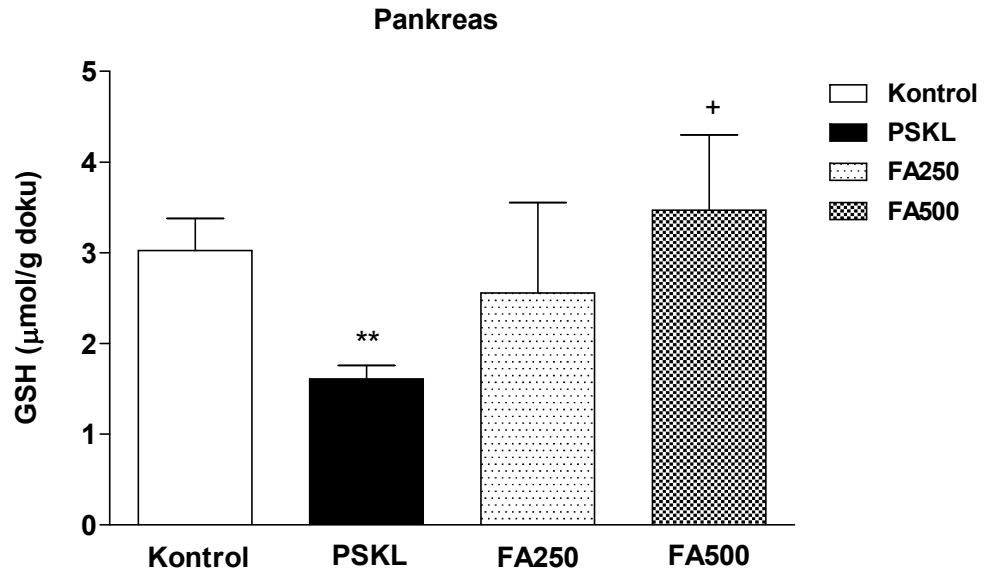


Şekil 6.6.3.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) akciğer malondialdehit (MDA) aktivitesi. PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. * $p < 0,05$, kontrol grubuna kıyasla.

6.7.Doku GSH Düzeyinin Değerlendirilmesi

6.7.1. Pankreas dokusu GSH düzeyleri

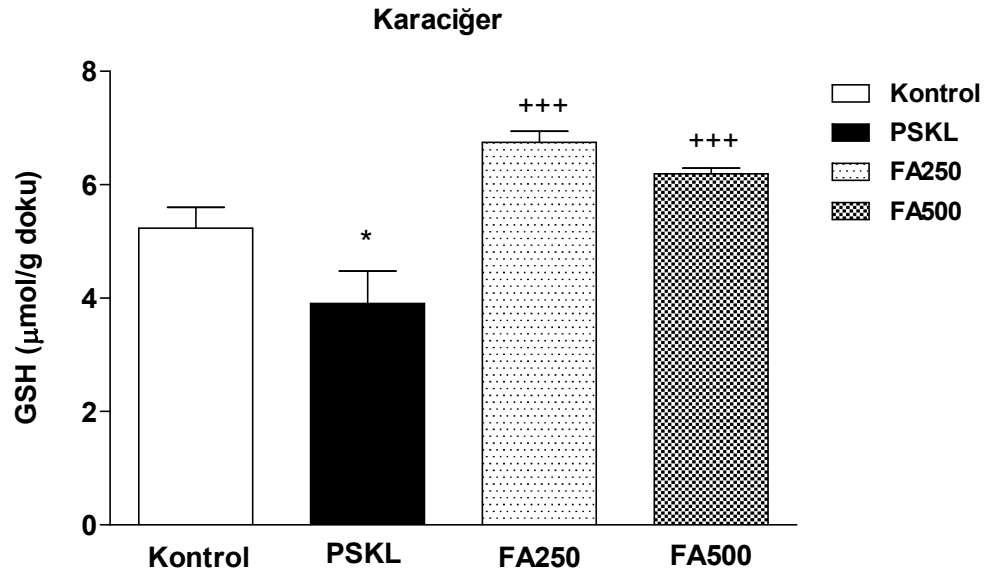
Pankreas dokusunda endojen antioksidan GSH düzeyleri değerlendirildiğinde, PSKL grubunda GSH düzeyinin ($1,61 \pm 0,15 \mu\text{mol/g}$; $p<0,01$), kontrol grubuna kıyasla ($3,02 \pm 0,35 \mu\text{mol/g}$) anlamlı şekilde düşük olduğu gözlemlendi. 500 mg/kg FA tedavisi alan grupta ise pankreatite bağlı tükenen GSH içeriğinin, PSKL grubuna göre ($3,47 \pm 0,82 \mu\text{mol/g}$; $p<0,05$) belirgin bir biçimde arttığı görüldü (Şekil 6.7.1.1).



Şekil 6.7.1.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavili gruplarda (FA250; n=12, FA500; n=12) pankreas glutatyon (GSH) düzeyleri. PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. ** $p<0,01$, kontrol grubuna kıyasla; + $p<0,05$, PSKL grubuna kıyasla.

6.7.2. Karaciğer dokusu GSH düzeyleri

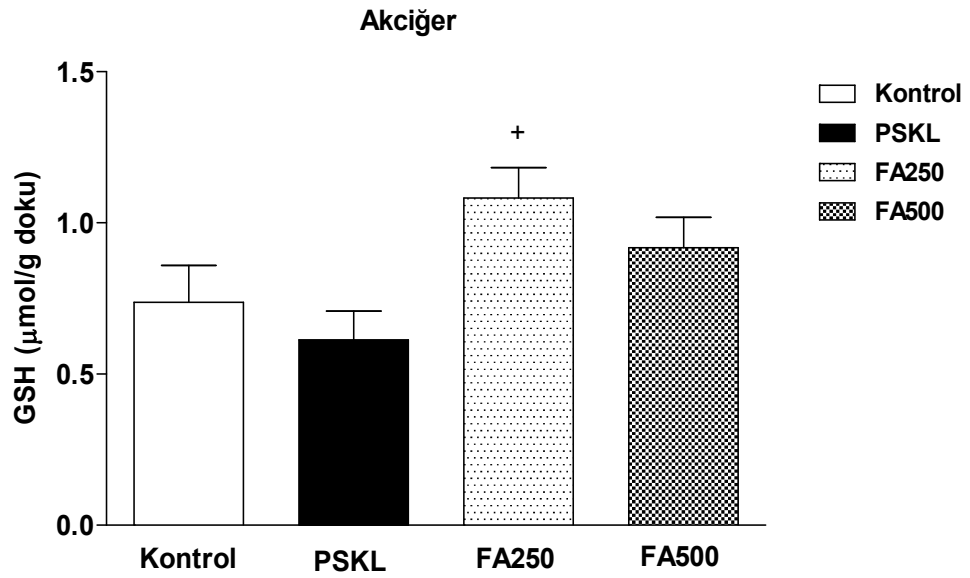
PSKL grubunda karaciğer GSH düzeyi ($3,90 \pm 0,57 \mu\text{mol/g}$; $p<0,05$) kontrol grubuna kıyasla ($5,23 \pm 0,37 \mu\text{mol/g}$) belirgin bir şekilde düşüktü. FA tedavisinin pankreatite bağlı tükenen GSH içeriğindeki azalmayı engellediği; FA250 ve FA500 gruplarında GSH düzeylerinin (sırasıyla $6,75 \pm 0,2 \mu\text{mol/g}$; $p<0,001$ ve $6,2 \pm 0,10 \mu\text{mol/g}$; $p<0,001$) PSKL grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görüldü (Şekil 6.7.2.1).



Şekil 6.7.2.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) karaciğer glutatyon (GSH) düzeyleri. PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. * $p<0,05$, kontrol grubuna kıyasla; +++ $p<0,001$, PSKL grubuna kıyasla.

6.7.3. Akciğer dokusu GSH düzeyleri

PSKL grubunun akciğer dokusu GSH ortalama düzeyi ($0,61 \pm 0,09 \mu\text{mol/g}$) kontrol grubu ($0,74 \pm 0,12 \mu\text{mol/g}$) ile karşılaştırıldığında daha azdı fakat değerler istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmadı. 250 mg/kg FA tedavisi alan grupta ise GSH içeriğinin PSKL grubuna kıyasla ($1,08 \pm 0,1 \mu\text{mol/g}$; $p < 0,05$) anlamlı olarak yükseldiği görüldü (Şekil 6.7.3.1). Diğer taraftan FA500 grubunda da GSH düzeyi PSKL grubuna göre anlamlı bir farka sahip değildi.



Şekil 6.7.3.1. Kontrol (n=10), PSKL (n=10) ve tedavi gruplarında (FA250; n=12, FA500; n=12) glutatyon (GSH) düzeyleri.

PSKL, Pankreas safra kanal ligasyonu; FA250, Ferulik Asit 250 mg/kg; FA500, Ferulik Asit 500 mg/kg. + $p < 0,05$, PSKL grubuna kıyasla.

7. SONUÇ VE TARTIŞMA

AP, asiner hücre nekrozuna yol açan enzimlerin intrapankreatik aktivasyonu ve sonrasında da proinflatuvar mediyatörlerin üretimiyle başlatılan karmaşık bir olaylar dizisi ile karakterize edilmektedir (155). Dünya çapında acil yatışı gerektiren ve en sık görülen gastrointestinal bozukluklardan biridir (156, 157). AP'nin insidansı son yıllarda giderek artmakta ve şiddet derecesi yüksek morbidite ve mortaliteden sorumlu olan inflamatuvar yanıt ile belirlenmektedir (158). Bu hastalık hafif, kendi kendini sınırlayan lokalize bir durumdan, ölümcül geniş çaplı çoklu organ yetmezliğine, yüksek mortalite oranlarına kadar uzanan geniş bir klinik spektrum olarak ortaya çıkabilmektedir (159). Altta yatan moleküler mekanizma ise, büyük ölçüde bilinmemektedir ve AP'yi tedavi etmek için terapötik bir ajan bulunmamaktadır (155).

AP'nin altta yatan patogenezini kontrol etmek için daha az yan etkiye sahip olan, doğal kaynaklardan elde edilebilen potansiyel antioksidan ve antiinflamatuvar ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır (160). Bu nedenle de tez çalışmasında, terapötik bir ajan olarak antioksidan, antiinflamatuvar özelliği bilinen, çeşitli tahıl ve meyvelerde bulunan FA'nın AP patogenezindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Enzimlerin hiperaktivasyonu ile karakterize edilen AP'de, proinflatuvar sitokinlerin salınımına bağlı olarak pankreatik amilaz ve lipaz gibi sindirim enzimlerinin aktivasyonu gerçekleşmektedir (161). Bununla birlikte, asiner hücrelerin bazal kutuplarındaki artan geçirgenlik ile de serum enzim seviyelerinde belirgin bir yükselme meydana gelmektedir (162). Genellikle serum lipaz seviyesi, semptomların başlangıcından 4-8 saat sonra artmaya başlamakta, 24 saatte de zirve yapmakta ve 8-14 gün sonrasında da normale dönmektedir (163). Serum amilaz konsantrasyonu ise, AP durumunda normal üst sınırının en az 3 katına çıkmakta, semptomların başlangıcından 3-6 saat sonrasında zirve yapmakta ve 3-5 gün sonrasında da normale dönmektedir (164). Klinikte bu iki testin spesifikliği ve duyarlılığı konusunda tartışmalar olsa da AP tanısında temel bir dayanaktır. Yapılan bir çalışmada hiperamilazeminin pankreas tıkanıklığı ve pankreas kanseri gibi

pankreatik hastalıklara bağlı olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir (88). Fakat lipaz enzimin konsantrasyonunun daha yüksek olması, kısa sürede zirve yapması ve uzun süre dolaşımda kalması teste daha fazla özgüllük katmaktadır.

Tez çalışmasında da, AP tanısında yaygın olarak kullanılan serum amilaz ve lipaz düzeylerine bakılmıştır (165). Pankreas-safra kanal ligasyonu yapılan hayvanlarda serum amilaz ve lipaz enzim seviyelerinin pankreatit indüksiyonundan sonra 48. saatte kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı görülmüştür. FA ile tedavide ise serum amilaz seviyesinin her iki dozda da 48. Saatte; serum lipaz seviyesinin ise, her iki dozda da 24. ve 48. saatte anlamlı bir şekilde düştüğü görülmüştür. FA'nın pankreatik enzimler üzerine olan bu etkisi ilk kez bu çalışma ile gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada da AP'li hayvanlarda, antiinflamatuvar özelliği olan ebselen ile tedavide serum amilaz ve bilirubin seviyesinin AP'li sıçanlara göre anlamlı bir azalma olmuştur (166).

Klinikte biliyer pankreatit tanısında ayrıca ALT, AST, ALP ve TB düzeylerine bakılmakta (95) ve aralarında korelasyon olduğu bildirilmektedir (167, 168). AP'de, ALT veya AST seviyeleri normal st sınırının  katından yüksek değerlere ulaşabilmekte, bu yüksek değerler çoğunlukla akut pankreatitin nedeni olarak safra taşını işaret etmektedir. Ancak, AP tanısında bilirubin ve/veya ALP düzeylerinin duyarlılıkları daha yüksektir. Serum ALP düzeyinin 246 U/L'den fazla olması biliyer pankreatite neden olan kanallardaki tıkanıklığı ifade etmektedir (95).

Bu nedenle yapılan çalışmada, ALT, AST, ALP ve TB seviyelerine bakılmıştır. Kontrol grubuna kıyasla PSKL grubunda anlamlı bir artış görülmüştür. 500 mg/kg FA tedavisi serum ALT seviyesini 48. Saatte düşürmüştür. AST seviyesinin FA 250 mg/kg tedavisi ile 48. saatte, FA500 mg/kg tedavi ile de 48. ve 72. saatte anlamlı bir şekilde düştüğü görülmüştür. ALP seviyesinin FA 500 mg/kg ile tedavide 24. saatte düştüğü görülmüştür. TB seviyesinin her iki doz ile tedavide de 72. saatte anlamlı bir şekilde azaldığı bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada da, antioksidan, antiinflamatuvar özellikteki resveratrol tedavisinin serum ALT, AST ve TB düzeylerini pankreatitli grubu göre anlamlı bir şekilde düşürdüğü gösterilmiş ve

iyileşmede önemli olduğu iddia edilmiştir (169). Bu da çalışmada kullanılan antioksidan özellikteki FA'nın etkin bir biçimde karaciğer enzimlerini düşürmesi AP'nin iyileşmesindeki rolünü desteklemektedir. Daha önce de, formaldehit ile indüklenmiş hepatoksisitede FA'nın ALT, AST, ALP ve TB seviyelerini anlamlı bir şekilde düşürdüğü gösterilmiştir (142).

AP'nin altta yatan mekanizmasını aydınlığı kavuşturmada enzim hiperaktivasyonu ile nötrofiller arasındaki ilişki önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir. Pankreatik enzimlerin kontrolsüz aktivasyonu ile inflamatuvar hücrelerin göçü özellikle de nötrofillerin AP'nin patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (170). AP sırasında nötrofillerin dokuya infiltrasyonu, P-selektin ve LFA-1 gibi spesifik adezyon molekülleri tarafından koordine edilen ve kemokinlerin salgılanması ile gerçekleşen çok aşamalı bir süreçtir (171). Nötrofil cevabı, inflamasyondan 24 saat içinde gerçekleşmektedir (9). Önceki çalışmalarda AP'de nötrofillerin pankreas dokusuna göç edip birikerek birçok proenzimin aktive olmasına ve çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin salgılanmasına yol açtığını göstermektedir (172). Aynı zamanda birçok çalışmada da, AP patogenezinin nötrofillerden bağımsız olarak gerçekleştiği ifade edilmektedir. Nötrofil birikimi ve tripsin aktivasyonu AP'de önemli bulunsun da, aralarındaki ilişkiler pankreatolojide çözümlenmemiş bir konu olarak kalmıştır. Pankreatitte tripsinojen aktivasyonunun nötrofil infiltrasyonuna mı yoksa tam tersine mi bağlı olduğu bilinmemektedir. Bu nedenle de, nötrofilin rolüne dair net bir sonuç ortaya koyulamamaktadır ve fikir birliğinin oluşmasına engel olmaktadır (10).

Bu bağlamda çalışmada, nötrofillerin AP'deki rolüne dair bilgi edinebilmek için nötrofillerin granüllerinde bulunan, dokuda nötrofil infiltrasyonunun göstergesi (155) olarak kabul edilen miyeloperoksidaz enzim aktivitesine bakılmıştır. AP'de MPO enzim aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir (173). Bu çalışmada da, pankreas safra kanal ligasyonu ile oluşturulan pankreatit modelinde, pankreas dokusuna ait MPO aktivitesinde anlamlı bir artış görülmüştür. Ferulik asit ile yapılan tedavide ise, MPO aktivitesinin her iki dozda da pankreas dokusunda anlamlı bir şekilde düştüğü görülmüştür. Elde edilen bilgiler pankreatit

patogenezinde nötrofillerin rolüne dair katkıda bulunmakta ve antiinflamatuvar etkinin varlığını ortaya koymaktadır. Ayrıca yapılan bir nefrotoksisite çalışmasında, FA tedavisinin dokudaki MPO aktivitesini anlamlı bir şekilde azalttığını göstermektedir (174). Elde edilen bu bulgular, FA'nın iyileştirici etkisini nötrofil infiltrasyonunu etkilemesi üzerinden yapabileceğini düşündürmektedir.

Çeşitli çalışmalar oksidatif stresin, akut pankreatitte ortaya çıkan lokal ve sistemik olaylarda mediyatör olduğunu ifade etmektedir (175,176). Deneysel akut pankreatitli hayvan çalışmalarında, pankreas dokusu ve plazmada lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığı gösterilmiştir (177,178). Ayrıca MDA düzeylerinin hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğu da bildirilmektedir. Aynı zamanda artmış MDA seviyelerinin pankreatite bağlı çoklu organ disfonksiyonu ile ilişkili olduğu da ifade edilmektedir (56). Bu nedenle çalışmada pankreas MDA düzeyleri araştırılmıştır. Pankreas-safra kanal ligasyonu ile artan MDA düzeyleri pankreas dokusunda oksidatif stresin ve sistemik düzeylerin varlığını göstermiş, FA ile yapılan tedavide doku MDA düzeyleri anlamlı bir şekilde azalmıştır. Ayrıca dalak hasarı ile indüklenmiş diyabetli sıçanlar ile yapılan bir çalışmada, artan MDA düzeyinin FA ile tedavide anlamlı bir şekilde azaldığı gösterilmiştir (179).

GSH, AP'de pankreastaki inflamatuvar yanıtta birincil hücresel ROM temizleyicisidir (180) ve endojen antioksidan olarak tanımlanmaktadır (181). GSH'nin pankreatik konsantrasyonu tüm viseral organlar arasında dördüncü en büyük konsantrasyondur (180) ve oksidatif bileşiklere karşı hücreleri korumaktadır (181). AP oksidatif stresin bir göstergesi olarak endojen koruyucu mekanizmalara zarar vermekte ve GSH miktarında azalmaya neden olmaktadır (182, 183). Klinikteki bulgular da, AP hastalarında ROM miktarının önemli ölçüde arttığını ve azalmış antioksidan düzeylerini göstermektedir (40).

Bizim çalışmamızda da, pankreatitli hayvanlarda pankreas GSH seviyesinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. FA 500 mg/kg ile tedavi edilmiş hayvanlarda ise, GSH düzeyinin pankreas dokusunda anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür. Aynı zamanda yapılan bir hepatotoksisite çalışmasında

karaciğer dokusunda azalan GSH içeriğinin FA tedavisi ile anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir. (184). Yapılan bir çalışmada TNBS ile indüklenmiş ülseratif kolit modelinde FA'nın; MPO aktivitesini ve MDA düzeyini azalttığı GSH içeriğini geri döndürdüğü gösterilmiştir (25).

AP hafif, kendi kendini sınırlayan lokalize bir hastalıktan; ölümcül geniş çaplı çoklu organ yetmezliğine, yüksek mortalite oranlarına kadar uzanan geniş bir klinik spektrum olarak ortaya çıkabilmektedir. Hafif pankreatit, pankreas iltihabı ve ödemi olup, nekrozun ek özellikleri ağır pankreatitte ekstra pankreatik organlara ikincil zarar vermektedir (185, 186). AP, akut inflamasyon ve pankreas parenkimi nekrozu, pankreatik yağ nekrozu, hemoraji ve inflamatuvar infiltrasyon ile karakterizedir (187). Nekroz veya apoptoz mekanizmalarına göre pankreatik hücre ölümü gerçekleştiği için, pankreas parenkimi içinde birçok nekrotik ve apoptotik hücreler görülebilmektedir (188). Pankreas dokusunda yapılan histolojik değerlendirmede, pankreatitli hayvanların pankreas parenkimasında asinuslarda yoğun harabiyet ile parenkima kaybı, ödem ve lökosit infiltrasyonu gözlenmiştir. Tedavili gruplarda ise asinuslardaki harabiyet, ödem ve lökosit infiltrasyonunda anlamlı bir azalma görülmüştür. Yapılan başka bir AP çalışmasından da pankreasta artan hemaraji ve nekroz oranının antioksidan tedavisi ile dokuda iyileşme göstermesi tez çalışmasında kullanılan antioksidan tedaviyi destekler niteliktedir (189).

AP'de pankreatik asiner hücrelerdeki hasar, pankreastaki zimojenlerin aktivasyonunu başlatan karmaşık olaylara yol açmakta ve TNF- α , IL-1 β gibi çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin salınımını başlatmaktadır (190,191). Bu inflamatuvar araçılarda, doku nekrozuna neden olmaktadır (155). AP'de merkezi bir role sahip olan TNF- α , asiner hücrelerde eksprese edilen ve immün hücrelerin aktivatörü olarak işlev gören diğer proinflamatuvar sitokinlerin ve lökosit adezyon moleküllerinin kilit bir düzenleyicisidir (192). AP'de TNF- α düzeyi, %96'lık bir hassasiyet gösterdiği ve yüksek bir duyarlılığa sahip olduğu düşünülmektedir (193). AP' de artmış sitozolik Ca⁺² konsantrasyonunun ve protein kinaz C (PKC) aktivasyonunun NF- κ B'nin aktivasyonuna neden olduğu ve buna bağlı olarak IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin ifadesinde artış olduğu bildirilmiştir (60). Çalışmadan

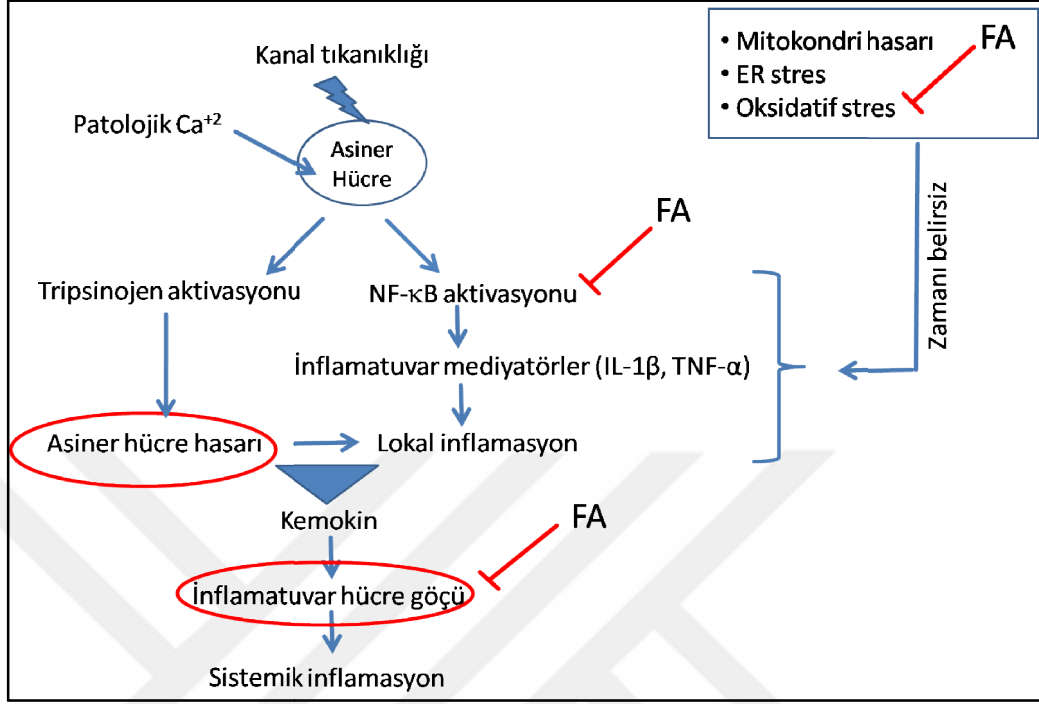
elde edilen bulgular, pankreatitli grupta artan TNF- α düzeyinin, FA ile tedavi sonucunda kontrol seviyelerine kadar düştüğünü göstermektedir. Başka bir çalışmada lipopolisakkarit ile indüklenmiş akut respiratuvar sendromda artan TNF- α düzeyinin FA tedavisi ile anlamlı bir azalma gösterdiği de belirtilmiştir (194). Bu bilgiler ışığında FA'nın etkisi, muhtemelen NF- κ B'nin aktivasyonunu engelleyerek ve bu yolla TNF- α düzeyini düşürerek gerçekleşmektedir.

AP'de pankreastan ayrılan kan, kalbe geri dönmeden önce karaciğer tarafından işlenmekte ve AP hastalarında sıklıkla karaciğer organ hasarı gelişebilmektedir (195). 1984 başlarında, Blamey ve ark., AP hastalarının %80'inde karaciğer hasarının geliştiğini ve AP'nin ilerlemesi ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. (196). Ayrıca, AP şiddetinin de önemli bir göstergesidir ve AP prognozu için anlamlı prediktif değeri vardır. Bu bağlamda karaciğer dokusunda oksidatif stres göstergesi olan MDA ve MPO aktivitesine bakılmış ve pankreatitli hayvanlarda artan oksidan seviyelerinin, her iki doz tedavide de anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür. Karaciğer dokusu GSH düzeyinde ise literatüre uygun olarak pankreatitli grupta anlamlı bir azalma görülürken, FA ile tedavide, GSH tükenmesi engellenmiştir. Yapılan histolojik değerlendirmelerde de, karaciğer dokusunda hepatositlerde vakuolizasyon, sinüzoidlerde genişleme, damar yapılarında vazokonjesyon ve periportal alanda lökosit infiltrasyonu izlendi. Tedavili gruplarda ise doku hasarında iyileşme görülmüştür. Yapılan başka bir çalışmada, Diosbulbin B ile indüklenmiş karaciğer hasarında meydana gelen lökosit infiltrasyonunun ve hepatoselüleri dejenerasyonunun FA tedavisi ile iyileşme gösterdiği bildirilmiştir (197).

Çoklu organ hasarına yol açan AP'nin ilerlemesinde en erken ve en yaygın oluşan organ disfonksiyonu ise akciğer hasarıdır (155). AP'de akciğer hasarı, özellikle ikincil enfeksiyonun belirlenmesinde, AP ile ilişkili ölümlerin çoğuna katkıda bulunmaktadır. Akciğer hasarının AP vakalarının %10-25'inde gerçekleştiği bildirilmiştir ve AP ile ilişkili ölümlerin %60'ına kadar sorumludur (198, 199). Uzak organ disfonksiyonu yaklaşık 48 saat sonra gelişmektedir (200).

Bu nedenle, akciğer dokusundaki hasarı göstermek amacıyla histolojik değerlendirme yapılmış, pankreatit grubunda alveol yapısında birleşme ve bozulma lökosit infiltrasyonu ve ödem gözlemiştir. Ancak tedavili gruplarda bir iyileşme gözlenmedi. Akciğer dokusuna ait MPO ve MDA seviyelerinde ise pankreatit grubunda anlamlı bir yükselme gözlenmiştir. Yapılan bir çalışmada da, AP'li hayvanlarda akciğer MPO ve MDA seviyesinde artış olduğu gösterilmiştir (201). FA 500 mg/kg ile tedavide ise, MPO enzim aktivasyonunun anlamlı bir şekilde azaldığı bulunmuştur. Fakat lipid peroksidasyon seviyesinde, tedavili gruplarda anlamlı bir azalma görülmemiştir. Akciğer GSH seviyesinin pankreatitli grupta azaldığı, FA 500 mg/kg ile tedavide ise, anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür. Dolayısıyla, biyokimyasal değerlerde akciğer dokusunda görülen iyileşme doku düzeyine yansımamıştır.

Sonuç olarak, çalışmada PSKL ile indüklenen pankreatitte pankreatik enzim sekresyonu ile doku MPO ve MDA düzeyinde anlamlı bir artış, antioksidan içeriğinde azalma, proinfilamatuvar sitokin olan TNF- α seviyesinde artış ile pankreas ve uzak doku hasarı görülmüştür. FA tedavisi doku ile ilişkili biyokimyasal parametreleri iyi yönde düzeltmiş, pankreas ve uzak organlarda doku düzeyinde belirgin bir iyileşme sağlamıştır. FA, bu etkilerini pankreatik enzimlerin aşırı sekresyonunu engelleyerek, nötrofil infiltrasyonunu ve muhtemelen nötrofil kaynaklı ROM üretimini baskılayarak, yüksek ihtimalle NF- κ B aktivasyonunu baskılayarak ve buna bağlı TNF- α seviyesini azaltarak, lipid peroksidasyonu inhibe ederek ve GSH içeriğini koruyucu antioksidan özelliği sayesinde gerçekleştirmiştir (Şekil 7.1.).



Şekil 7.1. FA'nın iyileştirici etkisinin özetlenmesi

8. KAYNAKLAR

1. Halangk W, Lerch MM. Early events in acute pancreatitis. *Clin Lab Med.* 2005; 25(1):1-15.
2. Quinlan JD. Acute pancreatitis. *Am Fam Physician.* 2014; 90(9):632-9.
3. Greenberg JA, Hsu J, Bawazeer M, Marshall J, Friedrich JO, Nathens A, Coburn N, May GR, Pearsall E, McLeod RS. Clinical practice guideline: Management of acute pancreatitis. *Can J Surg.* 2016; 59(2):128-40.
4. Carroll JK, Herrick B, Gipson T, Lee SP. Acute pancreatitis: Diagnosis, prognosis and treatment. *Am Fam Physician.* 2007; 75(10):1513-20.
5. Gooszen HG, Besselink MG, van Santvoort HC, Bollen TL. Surgical treatment of acute pancreatitis. *Langenbecks Arch Surg.* 2013; 398 (6):799-806.
6. Wang GJ, Li Y, Zhou ZG, Wang C, Meng WJ. Integrity of the pancreatic duct-acinar system in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2010; 9(3):242-7.
7. Hegyi P, Pandol S, Venglovecz V, Rakonczay Z Jr. The acinar-ductal tango in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut.* 2011; 60(4):544-52.
8. Pérez S, Pereda J, Sabater L, Sastre J. Redox signaling in acute pancreatitis. *Redox Biol.* 2015; 5:1-14.
9. Singh P, Garg PK. Pathophysiological mechanisms in acute pancreatitis: Current understanding. *Indian J Gastroenterol.* 2016; 35(3):153-66.
10. Abdulla A, Awla D, Thorlacius H, Regnér S. Role of neutrophils in the activation of trypsinogen in severe acute pancreatitis. *J Leukoc Biol.* 2011; 90(5):975-82.
11. Barlas A, Cevik H, Arbak S, Bangir D, Sener G, Yeğen C, Yeğen BC. Melatonin protects against pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats: Role of neutrophils. *J Pineal Res.* 2004; 37(4):267-75.
12. Yang ZW, Meng XX, Xu P. Central role of neutrophil in the pathogenesis of severe acute pancreatitis. *J Cell Mol Med.* 2015; 19(11):2513-20.
13. Awla D, Abdulla A, Zhang S, et al. Lymphocyte function antigen-1 regulates neutrophil recruitment and tissue damage in acute pancreatitis. *Br J Pharmacol.* 2011; 163:413–23.
14. Awla D, Abdulla A, Regnér S, Thorlacius H. TLR4 but not TLR2 regulates inflammation and tissue damage in acute pancreatitis induced by retrograde infusion of taurocholate. *Inflamm Res.* 2011; 60(12):1093-8.
15. Yu JH, Kim H. Oxidative stress and inflammatory signaling in cerulein pancreatitis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(46):17324-9.

16. Armstrong JA, Cash N, Soares PM, Souza MH, Sutton R, Criddle DN. Oxidative stress in acute pancreatitis: Lost in translation? *Free Radic Res.* 2013; 47(11):917-33.
17. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: Systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2007; 297: 842-57.
18. Satoh A, Masamune A, Kimura K, Kaneko K, Sakai Y, Yamagiwa T, Satoh M, Kikuta K, Asakura T, Shimosegawa T. Nuclear factor kappa B expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with acute pancreatitis. *Pancreas.* 2003; 26:350–56.
19. Nieminen A, Maksimow M, Mentula P, Kyhälä L, Kylänpää L, Puolakkainen P, Kemppainen E, Repo H, Salmi M. Circulating cytokines in predicting development of severe acute pancreatitis. *Crit Care.* 2014; 18(3):R104.
20. Tando Y, Algul H, Schneider G, et al. Induction of IkappaB-kinase by cholecystokinin is mediated by trypsinogen activation in rat pancreatic lobules. *Digestion.* 2002; 66(4):237–45.
21. Ji B, Gaiser S, Chen X, et al. Intracellular trypsin induces pancreatic acinar cell death but not NF-kappaB activation. *J Biol Chem.* 2009; 284(26):17488–98.
22. Dawra R, Sah RP, Dudeja V, Rishi L, Talukdar R, Garg P, Saluja AK. Intra-acinar trypsinogen activation mediates early stages of pancreatic injury but not inflammation in mice with acute pancreatitis. *Gastroenterology.* 2011; 141(6):2210-17.
23. Cao YJ, Zhang YM, Qi JP, Liu R, Zhang H, He LC. Ferulic acid inhibits H₂O₂-induced oxidative stress and inflammation in rat vascular smooth muscle cells via inhibition of the NADPH oxidase and NF-κB pathway. *International Immunopharmacology.* 2015; 28 (2): 1018-25.
24. Bacanlı M, Aydın S, Taner G, Göktaş HG, Şahin T, Başaran AA, Başaran N. The protective role of ferulic acid on sepsis-induced oxidative damage in Wistar albino rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2014; 38(3):774-82.
25. Sadar SS, Vyawahare NS, Bodhankar SL. Ferulic acid ameliorates TNBS-induced ulcerative colitis through modulation of cytokines, oxidative stress, iNOs, COX-2, and apoptosis in laboratory rats. *EXCLI J.* 2016; 15:482-99.
26. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks H. (Eds), *Ganong's Review of Medical Physiology.* 23rd ed, ABD: The McGraw-Hill Companies: 2010, pp.438.
27. Sherwood L. *Introduction to Human Physiology* 8th edition. ABD: Thomson Brooks/Cole Publications, 2012:637-39.
28. Braganza JM, Lee SH, McCloy RF, McMahon MJ. Chronic pancreatitis. *Lancet.* 2011; 377(9772):1184-97.

29. Lankisch PG, Apte M, Banks PA. Acute pancreatitis. *Lancet*. 2015; 386(9988):85-96.
30. Peery AF, Dellon ES, Lund J, Crockett SD, McGowan CE, Bulsiewicz WJ, Gangarosa LM, Thiny MT, Stizenberg K, Morgan DR, Ringel Y, Kim HP, Dibonaventura MD, Carroll CF, Allen JK, Cook SF, Sandler RS, Kappelman MD, Shaheen NJ. Burden of gastrointestinal disease in the United States: 2012 update. *Gastroenterology*. 2012; 143:1179–87.
31. Banks PA, Freeman ML. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 2006; 101: 2379-2400.
32. Patel Ga, Arunachalam S, Jarvis P, Booth R, Abdulrahman GO, Jalil O, Rasheed A. Severe Acute Pancreatitis-Time for a New Stratification. *JOP J Pancreas* 2016; 17(6):643-648.
33. Özen Y. Pankreas Hastalıkları. İçinde Klinik Gastroenteroloji. Memik F, Ed, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.,2004:202.
34. Gaiser S, Daniluk J, Liu Y, Tsou L, Chu J, Lee W, Longnecker DS, Logsdon CD, Ji B. Intracellular activation of trypsinogen in transgenic mice induces acute but not chronic pancreatitis. *Gut*. 2011; 60(10):1379-88.
35. Sutton R, Criddle D, Raraty MG, Tepikin A, Neoptolemos JP, Petersen OH. Signal transduction, calcium and acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2003; 3(6):497-505.
36. Criddle DN, Gerasimenko JV, Baumgartner HK, Jaffar M, Voronina S, Sutton R, Petersen OH, Gerasimenko OV. Calcium signalling and pancreatic cell death: apoptosis or necrosis? *Cell Death Differ*. 2007; 14(7):1285-94.
37. Raraty M, Ward J, Erdemli G, Vaillant C, Neoptolemos JP, Sutton R, Petersen OH: Calcium-dependent enzyme activation and vacuole formation in the apical granular region of pancreatic acinar cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97:13126-31.
38. DN Criddle, JV Gerasimenko, HK Baumgartner, M Jaffar, S Voronina, R Sutton, OH Petersen, OV Gerasimenko. Calcium signalling and pancreatic cell death: Apoptosis or necrosis? *Cell Death Differ*. 2007; 14:1285–94.
39. SJ Pandol, AK Saluja, CW Imrie, PA Banks. Acute pancreatitis: Bench to the bedside. *Gastroenterology*. 2007; 133:1056.
40. Criddle DN. Reactive oxygen species, Ca(2+) stores and acute pancreatitis; a step closer to therapy? *Cell Calcium*. 2016; 60(3):180-9.
41. Watanabe T, Kudo M, Strober W. Immunopathogenesis of pancreatitis. *Mucosal Immunol*. 2017; 10(2):283-98.
42. Wartmann T, Mayerle J, Kähne T, Sahin-Tóth M, Ruthenbürger M, Matthias R, Kruse A,

- Reinheckel T, Peters C, Weiss FU, Sendler M, Lippert H, Schulz HU, Aghdassi A, Dummer A, Teller S, Halangk W, Lerch MM. Cathepsin L inactivates human trypsinogen, whereas cathepsin L-deletion reduces the severity of pancreatitis in mice. *Gastroenterology*. 2010; 138(2):726-37.
43. Halangk W, Krüger B, Ruthenbürger M, Stürzebecher J, Albrecht E, Lippert H, Lerch MM. Trypsin activity is not involved in premature, intrapancreatic trypsinogen activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002; 282(2):G367-74.
44. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks H. (Eds), Ganong's Review of Medical Physiology. 23rd ed, ABD: The McGraw-Hill Companies: 2010, pp.436.
45. Booth DM, Murphy JA, Mukherjee R, Awais M, Neoptolemos JP, Gerasimenko OV, Tepikin AV, Petersen OH, Sutton R, Criddle DN. Reactive oxygen species induced by bile acid induce apoptosis and protect against necrosis in pancreatic acinar cells. *Gastroenterology*. 2011; 140(7):2116-25.
46. Booth DM, Mukherjee R, Sutton R, Criddle DN. Calcium and reactive oxygen species in acute pancreatitis: friend or foe? *Antioxid Redox Signal*. 2011; 15(10):2683-98.
47. Wen L, Voronina S, Javed MA, Awais M, Szatmary P, Latawiec D, Chvanov M, Collier D, Huang W, Barrett J, Begg M, Stauderman K, Roos J, Grigoryev S, Ramos S, Rogers E, Whitten J, Velicelebi G, Dunn M, Tepikin AV, Criddle DN, Sutton R. Inhibitors of ORAI1 Prevent Cytosolic Calcium-Associated Injury of Human Pancreatic Acinar Cells and Acute Pancreatitis in 3 Mouse Models. *Gastroenterology*. 2015; 149(2):481-92.
48. Gerasimenko JV, Gerasimenko OV, Petersen OH. The role of Ca²⁺ in the pathophysiology of pancreatitis. *J Physiol*. 2014; 592(2):269-80.
49. Kim JY, Kim KH, Lee JA, Namkung W, Sun AQ, Ananthanarayanan M, Suchy FJ, Shin DM, Muallem S, Lee MG. Transporter-mediated bile acid uptake causes Ca⁺²dependent cell death in rat pancreatic acinar cells. *Gastroenterology*. 2002; 122(7):1941-53.
50. Maléth J, Hegyi P. Calcium signaling in pancreatic ductal epithelial cells: An old friend and a nasty enemy. *Cell Calcium*. 2014; 55(6):337-45.
51. Krüger B, Albrecht E, Lerch MM. The role of intracellular calcium signaling in premature protease activation and the onset of pancreatitis. *Am J Pathol*. 2000; 157(1):43-50.
52. Forkink M, Smeitink JA, Brock R, Willems PH, Koopman WJ. Detection and manipulation of mitochondrial reactive oxygen species in mammalian cells. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1797(6-7):1034-44.
53. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13(3):159-75.
54. Park BK, Chung JB, Lee JH, Suh JH, Park SW, Song SY, Kim H, Kim KH, Kang JK. Role

- of oxygen free radicals in patients with acute pancreatitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2003; 9(10):2266–69.
55. Hernández V, Miranda M, Pascual I, Sanchiz V, Almela P, Añón R, Cuadrado E, Sanz MI, Mínguez M, Mora F, Romero FJ, Benages A. Malondialdehyde in early phase of acute pancreatitis. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2011; 103(11):563–69.
56. Shi C, Andersson R, Zhao X, Wang X. Potential role of reactive oxygen species in pancreatitis-associated multiple organ dysfunction. *Pancreatology*. 2005; 5(4–5):492–500.
57. Moreno ML, Escobar J, Izquierdo-Álvarez A, Gil A, Pérez S, Pereda J, Zapico I, Vento M, Sabater L, Marina A, Martínez-Ruiz A, Sastre J. Disulfide stress: A novel type of oxidative stress in acute pancreatitis. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014; 70:265–77.
58. Escobar J, Pereda J, López-Rodas G, Sastre J. Redox signaling and histone acetylation in acute pancreatitis. *Free Radic Biol Med*. 2012; 52(5):819–37.
59. Escobar J, Pereda J, Arduini A, Sandoval J, Sabater L, Aparisi L, López-Rodas G, Sastre J. Cross-talk between oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in acute pancreatitis: a key role for protein phosphatases. *Curr Pharm Des*. 2009; 15(26):3027–42.
60. Gukovsky I, Gukovskaya AS, Blinman TA, Zaninovic V, Pandol SJ. Early NF-kappaB activation is associated with hormone-induced pancreatitis. *Am J Physiol*. 1998; 275(6Pt1):G1402–14.
61. Rakonczay Z Jr, Hegyi P, Takacs T, Saluja AK. The role of NF-kβ activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut*. 2008; 57:259–67.
62. Hietaranta AJ, Saluja AK, Bhagat L, Singh VP, Song AM, Steer ML. Relationship between NF-kappaβ and trypsinogen activation in rat pancreas after supra maximal caerulein stimulation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 280:388–95.
63. Satoh A, Gukovskaya AS, Nieto JM, Cheng JH, Gukovsky I, Reeve JR Jr, Shimosegawa T, Pandol SJ. PKC-delta and epsilon regulate NF-kappaB activation induced by cholecystokinin and TNF-alpha in pancreatic acinar cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004; 287(3):G582–91.
64. Hietaranta AJ, Singh VP, Bhagat L, van Acker GJ, Song AM, Mykoniatis A, Steer ML, Saluja AK. Water immersion stress prevents caerulein-induced pancreatic acinar cell NF-κB activation by attenuating caerulein-induced intracellular Ca²⁺ changes. *J Biol Chem*. 2001; 276(22):18742–7.
65. Yu JH, Lim JW, Namkung W, Kim H, Kim KH. Suppression of cerulein-induced cytokine

- expression by antioxidants in pancreatic acinar cells. *Lab Invest.* 2002; 82(10):1359-68.
66. Gukovskaya AS, Mouria M, Gukovsky I, Reyes CN, Kasho VN, Faller LD, Pandol SJ. Ethanol metabolism and transcription factor activation in pancreatic acinar cells in rats. *Gastroenterology.* 2002; 122(1):106-18.
67. Altavilla D, Famulari C, Passaniti M, Galeano M, Macri A, Seminara P, Minutoli L, Marini H, Calò M, Venuti FS, Esposito M, Squadrito F. Attenuated cerulein-induced pancreatitis in nuclear factor-kappaB-deficient mice. *Lab Invest.* 2003; 83(12):1723-32.
68. Sakai Y, Masamune A, Satoh A, Nishihira J, Yamagiwa T, Shimosegawa T. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of severe acute pancreatitis. *Gastroenterology.* 2003; 124(3):725-36.
69. Dambrauskas Z, Giese N, Gulbinas A, et al. Different profiles of cytokine expression during mild and severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol.* 2010; 16:1845-53.
70. Sathyanarayan G, Garg PK, Prasad HK, Tandon RK. Elevated level of interleukin-6 predicts organ failure and severe disease in patients with acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 22:550-4.
71. Mayer J, Rau B, Gansauge F, Beger HG. Inflammatory mediators in human acute pancreatitis: clinical and pathophysiological implications. *Gut.* 2000; 47(4):546-52.
72. Hoque R, Malik AF, Gorelick F, Mehal WZ. Sterile inflammatory response in acute pancreatitis. *Pancreas.* 2012; 41(3):353-7.
73. Hoque R, Sohail M, Malik A, Sarwar S, Luo Y, Shah A, Barrat F, Flavell R, Gorelick F, Husain S, Mehal W. TLR9 and the NLRP3 inflammasome link acinar cell death with inflammation in acute pancreatitis. *Gastroenterology.* 2011; 141(1):358-69.
74. Chen G, Shaw MH, Kim YG, Nuñez G. NOD-like receptors: role in innate immunity and inflammatory disease. *Annu Rev Pathol.* 2009; 4:365-98.
75. Sandler M, Dummer A, Weiss FU, Krüger B, Wartmann T, Scharffetter-Kochanek K, van Rooijen N, Malla SR, Aghdassi A, Halangck W, Lerch MM, Mayerle J. Tumour necrosis factor α secretion induces protease activation and acinar cell necrosis in acute experimental pancreatitis in mice. *Gut.* 2013; 62(3):430-9.
76. Oruc N, Ozutemiz AO, Yukselen V, Nart D, Celik HA, Yuce G, Batur Y. Infliximab: A new therapeutic agent in acute pancreatitis? *Pancreas.* 2004; 28(1):e1-8.
77. Saeki K, Kanai T, Nakano M, Nakamura Y, Miyata N, Sujino T, Yamagishi Y, Ebinuma H, Takaishi H, Ono Y, Takeda K, Hozawa S, Yoshimura A, Hibi T. CCL2-induced migration and SOCS3-mediated activation of macrophages are involved in cerulein-induced pancreatitis in mice. *Gastroenterology.* 2012; 142(4):1010-20.
78. Watanabe T, Sadakane Y, Yagama N, Sakurai T, Ezoe H, Kudo M, Chiba T, Strober W.

- Nucleotide-binding oligomerization domain 1 acts in concert with the cholecystokinin receptor agonist, cerulein, to induce IL-33-dependent chronic pancreatitis. *Mucosal Immunol.* 2016;9(5):1234-49.
79. Xue J, Sharma V, Hsieh MH, Chawla A, Murali R, Pandol SJ, Habtezion A. Alternatively activated macrophages promote pancreatic fibrosis in chronic pancreatitis. *Nat Commun.* 2015; 6:7158.
 80. Ouziel R, Gustot T, Moreno C, Arvanitakis M, Degré D, Trépo E, Quertinmont E, Vercruyse V, Demetter P, Le Moine O, McKenzie AN, Delhaye M, Devière J, Lemmers A. The ST2 pathway is involved in acute pancreatitis: a translational study in humans and mice. *Am J Pathol.* 2012; 180(6):2330-9.
 81. Sesti-Costa R, Silva GK, Proença-Módena JL, Carlos D, Silva ML, Alves-Filho JC, Arruda E, Liew FY, Silva JS. The IL-33/ST2 pathway controls coxsackievirus B5-induced experimental pancreatitis. *J Immunol.* 2013;191(1):283-92.
 82. Pujahari AK. Chronic Pancreatitis: A Review. *Indian J Surg.* 2015; 77 (Suppl 3):1348-58.
 83. Rudiger A, Singer M. Mechanisms of sepsis-induced cardiac dysfunction. *Crit Care Med.* 2007; 35(6):1599-608.
 84. Matull WR, Pereira SP, O'Donohue JW. Biochemical markers of acute pancreatitis. *Journal of Clinical Pathology.* 2006; 59(4):340-4.
 85. Shah AM, Eddi R, Kothari ST, Maksoud C, DiGiacomo WS, Baddoura W. Acute pancreatitis with normal serum lipase: A case series. *JOP.* 2010; 11(4):369-72.
 86. Zerem D, Zerem O, Zerem E. Role of Clinical, Biochemical, and Imaging Parameters in predicting the Severity of Acute Pancreatitis. *Euroasian J Hepatogastroenterol.* 2017; 7(1):1-5.
 87. Chang JWY, Chung CH. Diagnosing acute pancreatitis: Amylase or lipase? *Hong Kong Journal of Emergency Medicine.* 2011; 18(1):20-5.
 88. Lippi G, Valentino M, Cervellin G. Laboratory diagnosis of acute pancreatitis: In search of the Holy Grail. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences.* 2012; 49(1):18–31.
 89. Meher S, Mishra TS, Sasmal PK, Rath S, Sharma R, Rout B, Sahu MK. Role of Biomarkers in Diagnosis and Prognostic Evaluation of Acute Pancreatitis. *J Biomark.* 2015; 2015:519534.
 90. Aeffner F, Bolon B, Davis IC. Mouse Models of Acute Respiratory Distress Syndrome: A Review of Analytical Approaches, Pathologic Features, and Common Measurements. *Toxicol Pathol.* 2015; 43(8):1074-92.
 91. Alhan E, Usta A, Türkyılmaz S, Kural BV, Erçin C. Effects of glutamine alone on the acute necrotizing pancreatitis in rats. *J Surg Res.* 2015;19(1):161-7.

92. Ateyya H, Wagih HM, El-Sherbeeney NA. Effect of tiron on remote organ injury in rats with severe acute pancreatitis induced by L-arginine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2016; 389(8):873-85.
93. Nepomnyashchikh LM, Bakarev MA, Vasilyev AV, Protsenko SI. Pathomorphological analysis of the pancreaticoduodenal organs in experimental pancreonecrosis induced by trypsin injection. *Bull Exp Biol Med.* 2013; 155(2):249-54.
94. Popa CC. Prognostic biological factors in severe acute pancreatitis. *J Med Life.* 2014; 7(4):525-8.
95. Chan T, Yaghoubian A, Rosing D, Lee E, Lewis RJ, Stabile BE, De Virgilio C. Total bilirubin is a useful predictor of persisting common bile duct stone in gallstone pancreatitis. *Am Surg.* 2008; 74(10):977-80.
96. Güngör B, Çağlayan K, Polat C, Seren D, Erzurumlu K, Malazgirt Z. The predictivity of serum biochemical markers in acute biliary pancreatitis. *ISRN Gastroenterol.* 2011; 2011:279607.
97. Luo L, Zen H, Xu H, Zhu Y, Liu P, Xia L, He W, Lv N. Clinical characteristics of acute pancreatitis in pregnancy: experience based on 121 cases. *Arch Gynecol Obstet.* 2018; 297(2):333-9.
98. Sağlam K, Alhan E, Türkyılmaz S, Vanizor BK, Erçin C. The anti-inflammatory effect of hydrogen sulphide on acute necrotizing pancreatitis in rats. *Turk J Surg.* 2017;33(3):158-63.
99. Zhan X, Wang F, Bi Y, Ji B. Animal models of gastrointestinal and liver diseases. *Animal models of acute and chronic pancreatitis.* *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2016; 311(3):G343-55.
100. Rasmussen HH, Irtun O, Olesen SS, Drewes AM, Holst M. Nutrition in chronic pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19:7267-75.
101. Majumder S, Chari ST. Chronic pancreatitis. *Lancet* 387: 1957–1966, 2016.
102. 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(12):2192-9.
103. Duggan SN, Ní Chonchubhair HM, Lawal O, O'Connor DB, Conlon KC. Chronic pancreatitis: A diagnostic dilemma. *World J Gastroenterol.* 2016; 22(7):2304-13.
104. Ji B, Tsou L, Wang H, Gaiser S, Chang DZ, Daniluk J, Bi Y, Grote T, Longnecker DS, Logsdon CD. Ras activity levels control the development of pancreatic diseases. *Gastroenterology.* 2009; 137(3):1072-82, 1082.e1-6.

105. Issa Y, Kempeneers MA, van Santvoort HC, Bollen TL, Bipat S, Boermeester MA. Diagnostic performance of imaging modalities in chronic pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol.* 2017; 27(9):3820-44.
106. Jupp J, Fine D, Johnson CD. The epidemiology and socioeconomic impact of chronic pancreatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010; 24(3):219-31.
107. Jagannath S, Garg PK. Novel and experimental therapies in chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 2017; 62(7):1751-61.
108. Pandiri AR. Overview of exocrine pancreatic pathobiology. *Toxicol Pathol.* 2014; 42(1):207-16.
109. Tsuchitani M, Sato J, Kokoshima H. A comparison of the anatomical structure of the pancreas in experimental animals. *J Toxicol Pathol.* 2016; 29(3):147-54.
110. Manohar M, Verma AK, Venkateshaiah SU, Sanders NL, Mishra A. Pathogenic mechanisms of pancreatitis. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2017; 8(1):10-25.
111. Hyun JJ, Lee HS. Experimental models of pancreatitis. *Clin Endosc.* 2014; 47(3):212-6.
112. Hue Su K, Cuthbertson C, Christophi C. HPB Review of experimental animal models of acute pancreatitis. *The Official Journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association.* 2006; 8(4): 264-86.
113. Singh S, Bhardwaj U, Verma SK, Bhalla A, Gill K. Hyperamylasemia and acute pancreatitis following anticholinesterase poisoning. *Hum Exp Toxicol.* 2007; 26(6):467-71.
114. Bartholomew C. Acute scorpion pancreatitis in Trinidad. *Br Med J.* 1970; 1(5697):666-8.
115. Ji B, Bi Y, Simeone D, Mortensen RM, Logsdon CD. Human pancreatic acinar cells lack functional responses to cholecystokinin and gastrin. *Gastroenterology.* 2001; 121(6):1380-90.
116. Owyang C, Logsdon CD. New insights into neurohormonal regulation of pancreatic secretion. *Gastroenterology.* 2004; 127(3):957-69.
117. Thal A, Brackney E. Acute hemorrhagic pancreatic necrosis produced by local Shwartzman reaction: experimental study on pancreatitis. *JAMA* 1954; 155:569-74.
118. Janigan DT, Nevalainen TJ, MacAulay MA, et al. Foreign serum-induced pancreatitis in mice. I. A new model of acute pancreatitis. *Lab Invest* 1975; 33:591– 607.
119. Lerch MM, Gorelick FS. Models of acute and chronic pancreatitis. *Gastroenterology.* 2013; 144(6):1180-93.
120. Mizunuma T, Kawamura S, Kishino Y. Effects of injecting excess arginine on rat pancreas. *J Nutr* 1984; 114:467-71.
121. Tani S, Itoh H, Okabayashi Y, et al. New model of acute necrotizing pancreatitis induced by excessive doses of arginine in rats. *Dig Dis Sci.* 1990; 35:367-74.

122. Weaver C, Bishop AE, Polak JM. Pancreatic changes elicited by chronic administration of excess L-arginine. *Exp Mol Pathol*. 1994; 60:71-87.
123. Memoir on the pancreas and on the role of pancreatic juice in digestive processes, particularly in the digestion of neutral fat. By Claude Bernard. 1856. Translated by John Henderson. *Monogr Physiol Soc*. 1985; 42:1-131.
124. Neuschwander-Tetri BA, Bridle KR, Wells LD, Marcu M, Ramm GA. Repetitive acute pancreatic injury in the mouse induces procollagen alpha1(I) expression colocalized to pancreatic stellate cells. *Lab Invest*. 2000; 80:143-50.
125. Apte M, Pirola R, Wilson J. New insights into alcoholic pancreatitis and pancreatic cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009; 24 (Suppl 3):S51–S56.
126. Vonlaufen A, Xu Z, Daniel B, Kumar RK, Pirola R, Wilson J, Apte MV. Bacterial endotoxin: A trigger factor for alcoholic pancreatitis? Evidence from a novel, physiologically relevant animal model. *Gastroenterology*. 2007; 133:1293–303.
127. Su KH, Cuthbertson C, Christophi C. Review of experimental animal models of acute pancreatitis. *HPB (Oxford)*. 2006; 8(4):264-86.
128. Mooren F, Hlouschek V, Finkes T, Turi S, Weber IA, Singh J, Domschke W, Schnekenburger J, Krüger B, Lerch MM. Early changes in pancreatic acinar cell calcium signaling after pancreatic duct obstruction. *J Biol Chem*. 2003; 278(11):9361-9.
129. Maruyama H, Kawakami F, Lwin TT, Imai M, Shamsa F. Biochemical Characterization of Ferulic Acid and Caffeic Acid Which Effectively Inhibit Melanin Synthesis via Different Mechanisms in B16 Melanoma Cells. *Biol Pharm Bull*. 2018; 41(5):806-10.
130. Baskaran N, Manoharan S, Karthikeyan S, Prabhakar MM. Chemopreventive potential of coumarin in 7, 12-dimethylbenz[a] anthracene induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Asian Pacific Journal Cancer Prevention*. 2012; 13(10):5273-9.
131. Srinivasan M, Rukkumani R, Ram Sudheer A, Menon VP. Ferulic acid, a natural protector against carbon tetrachloride-induced toxicity. *Fundam Clin Pharmacol*. 2005; 19(4):491-6.
132. Zhao Z, Moghadasian MH. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem*. 2008; 109(4):691-702.
133. Srinivasan M, Sudheer AR, Pillai KR, Kumar PR, Sudhakaran PR, Menon VP. Influence of ferulic acid on gamma-radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes. *Toxicology*. 2006; 228(2-3):249-58.
134. Perluigi M, Joshi G, Sultana R, Calabrese V, De Marco C, Coccia R, Cini C, Butterfield DA.

- In vivo protective effects of ferulic acid ethyl ester against amyloid-beta peptide 1-42-induced oxidative stress. *J Neurosci Res*. 2006; 84(2):418-26.
135. Ohnishi M, Matuo T, Tsuno T, Hosoda A, Nomura E, Taniguchi H, Sasaki H, Morishita H. Antioxidant activity and hypoglycemic effect of ferulic acid in STZ-induced diabetic mice and KK-Ay mice. *Biofactors*. 2004; 21(1-4):315-9
 136. Bagheri SM, Asl AA, Shams A, Mirghanizadeh-Bafghi SA, Hafizibarjin Z. Evaluation of Cytotoxicity Effects of Oleo-Gum-Resin and Its Essential Oil of *Ferula assa-foetida* and Ferulic Acid on 4T1 Breast Cancer Cells. *Indian J Med Paediatr Oncol*. 2017; 38(2):116-20.
 137. Suzuki A, Yamamoto M, Jokura H, Fujii A, Tokimitsu I, Hase T, Saito I. Ferulic acid restores endothelium-dependent vasodilation in aortas of spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 2007; 20(5):508-13.
 138. Zhao Z, Egashira Y, Sanada H. Ferulic acid is quickly absorbed from rat stomach as the free form and then conjugated mainly in liver. *J Nutr*. 2004; 134(11):3083-8.
 139. Kang J, Liu Y, Xie MX, Li S, Jiang M, Wang YD. Interactions of human serum albumin with chlorogenic acid and ferulic acid. *Biochim Biophys Acta*. 2004; 1674(2):205-14.
 140. Yang C, Tian Y, Zhang Z, Xu F, Chen Y. High-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry determination of sodium ferulate in human plasma. *J Pharm Biomed Anal*. 2007; 43(3):945-50.
 141. Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, Taniguchi H. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *J Agric Food Chem*. 2002; 50(7):2161-8.
 142. Gerin F, Erman H, Erboga M, Sener U, Yilmaz A, Seyhan H, Gurel A. The Effects of Ferulic Acid Against Oxidative Stress and Inflammation in Formaldehyde-Induced Hepatotoxicity. *Inflammation*. 2016; 39(4):1377-86.
 143. Das U, Manna K, Sinha M, Datta S, Das DK, Chakraborty A, Ghosh M, Saha KD, Dey S. Role of ferulic acid in the amelioration of ionizing radiation induced inflammation: A murine model. *PLoS One*. 2014; 9(5):e97599.
 144. Islam MS, Murata T, Fujisawa M, Nagasaka R, Ushio H, Bari AM, Hori M, Ozaki H. Anti-inflammatory effects of phytosteryl ferulates in colitis induced by dextran sulphate sodium in mice. *Br J Pharmacol*. 2008; 154(4):812-24.
 145. Baskaran N, Manoharan S, Balakrishnan S, Pugalendhi P. Chemopreventive potential of ferulic acid in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis in Sprague-Dawley rats. *Eur J Pharmacol*. 2010; 637(1-3):22-9.
 146. Murakami A, Nakamura Y, Koshimizu K, Takahashi D, Matsumoto K, Hagihara K,

- Taniguchi H, Nomura E, Hosoda A, Tsuno T, Maruta Y, Kim HW, Kawabata K, Ohigashi H. FA15, a hydrophobic derivative of ferulic acid, suppresses inflammatory responses and skin tumor promotion: Comparison with ferulic acid. *Cancer Lett.* 2002; 180(2):121-9.
147. Jin Y, Yan EZ, Fan Y, Zong ZH, Qi ZM, Li Z. Sodium ferulate prevents amyloid-beta-induced neurotoxicity through suppression of p38 MAPK and upregulation of ERK-1/2 and Akt/protein kinase B in rat hippocampus. *Acta Pharmacol Sin.* 2005; 26(8):943-51.
148. Barros MP, Lemos M, Maistro EL, Leite MF, Sousa JP, Bastos JK, Andrade SF. Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. *J Ethnopharmacol.* 2008; 120(3):372-7.
149. Jahovic N, Arbak S, Tekeli O, Alican I. Alpha-melanocyte stimulating hormone has beneficial effects on cerulein-induced acute pancreatitis. *Peptides.* 2004; 25(1):129-32.
150. Barlas A, Cevik H, Arbak S, Bangir D, Sener G, Yeğen C, Yeğen BC. Melatonin protects against pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats: Role of neutrophils. *J Pineal Res.* 2004; 37(4):267-75.
151. Ozveri ES, Bozkurt A, Haklar G, Cetinel S, Arbak S, Yeğen C, Yeğen BC. Estrogens ameliorate remote organ inflammation induced by burn injury in rats. *Inflamm Res.* 2001; 50(12):585-91.
152. Pazar A, Kolgazi M, Memisoglu A, Bahadir E, Sirvanci S, Yaman A, Yeğen BÇ, Ozek E. The neuroprotective and anti-apoptotic effects of melatonin on hemolytic hyperbilirubinemia-induced oxidative brain damage. *J Pineal Res.* 2016; 60(1):74-83.
153. Kolgazi M, Cantali-Ozturk C, Deniz R, Ozdemir-Kumral ZN, Yuksel M, Sirvanci S, Yeğen BC. Nesfatin-1 alleviates gastric damage via direct antioxidant mechanisms. *J Surg Res.* 2015; 193(1):111-8.
154. Kolgazi M, Uslu U, Yuksel M, Velioglu-Ogunc A, Ercan F, Alican I. The role of cholinergic anti-inflammatory pathway in acetic acid-induced colonic inflammation in the rat. *Chem Biol Interact.* 2013; 205(1):72-80.
155. Leema G, Tamizhselvi R. Protective Effect of Scopoletin Against Cerulein-Induced Acute Pancreatitis and Associated Lung Injury in Mice. *Pancreas.* 2018; 47(5):577-85.
156. Working Group IAP/APA Acute Pancreatitis Guidelines. IAP/APA evidence-based guidelines for the management of acute pancreatitis. *Pancreatology.* 2013; 13 (4 Suppl 2):e1-15.
157. Tigliano S, Sternby H, de Madaria E, Capurso G, Petrov MS. Early management of acute pancreatitis: A review of the best evidence. *Dig Liver Dis.* 2017; 49(6):585-594.
158. Rau B, Schilling MK, Beger HG. Laboratory markers of severe acute pancreatitis. *Dig Dis.*

- 2004; 22(3):247-57.
159. Esrefoglu M. Experimental and clinical evidence of antioxidant therapy in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol.* 2012; 18(39):5533-41.
160. El-Ashmawy NE, Khedr NF, El-Bahrawy HA, Hamada OB. Suppression of inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor-alpha level by lycopene is comparable to methylprednisolone in acute pancreatitis. *Dig Liver Dis.* 2018; S1590-8658(18)30167-1.
161. El-Ashmawy NE, Khedr NF, El-Bahrawy HA, Hamada OB. Anti-inflammatory and Antioxidant Effects of Captopril Compared to Methylprednisolone in L-Arginine-Induced Acute Pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 2018; 63(6):1497-505.
162. Yadav D, Agarwal N, Pitchumoni CS. A critical evaluation of laboratory tests in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97(6):1309-18.
163. Rau BM, Kempainen EA, Gumbs AA, Büchler MW, Wegscheider K, Bassi C, Puolakkainen PA, Beger HG. Early assessment of pancreatic infections and overall prognosis in severe acute pancreatitis by procalcitonin (PCT): A prospective international multicenter study. *Ann Surg.* 2007 May; 245(5):745-54.
164. Ismail OZ, Bhayana V. Lipase or amylase for the diagnosis of acute pancreatitis? *Clin Biochem.* 2017; 50(18):1275-80.
165. Ma MH, Bai HX, Park AJ, Latif SU, Mistry PK, Pashankar D, Northrup VS, Bhandari V, Husain SZ. Risk factors associated with biliary pancreatitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012; 54(5):651-6.
166. Zhao H, Lu HG, Shi YB, Zhao LM, Bai C, Wang X. Role of enteral nutrition supplemented with ebselen and EHEC in pancreatitis-associated multiple organ dysfunction in rats. *Inflamm Res.* 2006; 55(10):423-9.
167. van Santvoort HC, Bakker OJ, Besselink MG, Bollen TL, Fischer K, Nieuwenhuijs VB, Gooszen HG, Erpecum KJ. Prediction of common bile duct stones in the earliest stages of acute biliary pancreatitis. *Endoscopy.* 2011; 43:8-13.
168. Zarnescu NO, Costea R, Zarnescu Vasiliu EC, Neagu S. Clinico-biochemical factors to early predict biliary etiology of acute pancreatitis: age, female gender, and ALT. *J Med Life.* 2015; 8(4):523-6.
169. Sha H, Ma Q, Jha RK, Xu F, Wang L, Wang Z, Zhao Y, Fan F. Resveratrol ameliorates hepatic injury via the mitochondrial pathway in rats with severe acute pancreatitis. *Eur J Pharmacol.* 2008; 601(1-3):136-42.
170. Fakhari S, Abdolmohammadi K, Panahi Y, Nikkhoo B, Peirmohammadi H, Rahmani MR,

- Moghadam AS, Jalili A. Glycyrrhizin attenuates tissue injury and reduces neutrophil accumulation in experimental acute pancreatitis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013; 7(1):101-9.
171. Bhatia M, Hegde A. Treatment with antileukinate, a CXCR2 chemokine receptor antagonist, protects mice against acute pancreatitis and associated lung injury. *Regul Pept.* 2007; 138(1):40-8.
172. Awla D, Abdulla A, Syk I, Jeppsson B, Regnér S, Thorlacius H. Neutrophil-derived matrix metalloproteinase-9 is a potent activator of trypsinogen in acinar cells in acute pancreatitis. *J Leukoc Biol.* 2012; 91(5):711-9.
173. Ceppa EP, Lyo V, Grady EF, Knecht W, Grahn S, Peterson A, Bunnett NW, Kirkwood KS, Cattaruzza F. Serine proteases mediate inflammatory pain in acute pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2011; 300(6):G1033-42.
174. Bami E, Ozakpınar OB, Ozdemir-Kumral ZN, Köroglu K, Ercan F, Cirakli Z, Sekerler T, Izzettin FV, Sancar M, Okuyan B. Protective effect of ferulic acid on cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2017; 54:105-11.
175. Escobar J, Pereda J, Arduini A, Sandoval J, Moreno ML, Pérez S, Sabater L, Aparisi L, Cassinello N, Hidalgo J, Joosten LA, Vento M, López-Rodas G, Sastre J. Oxidative and nitrosative stress in acute pancreatitis. Modulation by pentoxifylline and oxypurinol. *Biochem Pharmacol.* 2012; 83(1):122-30.
176. Que RS, Cao LP, Ding GP, Hu JA, Mao KJ, Wang GF. Correlation of nitric oxide and other free radicals with the severity of acute pancreatitis and complicated systemic inflammatory response syndrome. *Pancreas.* 2010; 39(4):536-40.
177. Lutgendorff F, Nijmeijer RM, Sandström PA, Trulsson LM, Magnusson KE, Timmerman HM, van Minnen LP, Rijkers GT, Gooszen HG, Akkermans LM, Söderholm JD. Probiotics prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. *PLoS One.* 2009; 4(2):e4512.
178. Akyazi I, Eraslan E, Gülçubuk A, Ekiz EE, Cırakli ZL, Haktanir D, Bala DA, Ozkurt M, Matur E, Ozcan M. Long-term aspirin pretreatment in the prevention of cerulein-induced acute pancreatitis in rats. *World J Gastroenterol.* 2013; 19(19):2894-903.
179. Ghosh S, Chowdhury S, Sarkar P, Sil PC. Ameliorative role of ferulic acid against diabetes associated oxidative stress induced spleen damage. *Food Chem Toxicol.* 2018; 118:272-86.
180. Uçmak F, Ekin N, İbiloğlu İ, Arslan S, Kaplan İ, Şenateş E. Prophylactic Administration of Silybin Ameliorates L-Arginine-Induced Acute Pancreatitis. *Med Sci Monit.* 2016; 22:3641-6.

181. Martinez-Useros J, Li W, Cabeza-Morales M, Garcia-Foncillas J. Oxidative Stress: A New Target for Pancreatic Cancer Prognosis and Treatment. *J Clin Med*. 2017; 6(3).
182. Zhu P, Oe T, Blair IA. Determination of cellular redox status by stable isotope dilution liquid chromatography/mass spectrometry analysis of glutathione and glutathione disulfide. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2008; 22(4):432-40.
183. Letoha T, Somlai C, Takacs T, Szabolcs A, Jarmay K, Rakonczay Z Jr, Hegyi P, Varga I, Kaszaki J, Krizbai I, Boros I, Duda E, Kusz E, Penke B. A nuclear import inhibitory peptide ameliorates the severity of cholecystokinin-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2005; 11(7):990-9.
184. Panneerselvam L, Subbiah K, Arumugam A, Senapathy JG. Ferulic acid modulates fluoride-induced oxidative hepatotoxicity in male Wistar rats. *Biol Trace Elem Res*. 2013; 151(1):85-91.
185. Eşrefoğlu M, Gül M, Ates B, Batçioğlu K, Selimoğlu MA. Antioxidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein-induced pancreatitis and associated liver injury in rats. *World J Gastroenterol*. 2006; 12:259–64.
186. Eşrefoğlu M, Gül M, Turan F. Comparative effects of several therapeutic agents on hepatic damage induced by acute experimental pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2008; 53:1303–10.
187. Gül M, Eşrefoğlu M, Oztürk F, Ateş B, Otlu A. The beneficial effects of pentoxifylline on caerulein-induced acute pancreatitis in rats. *Dig Dis Sci*. 2009; 54:555–63.
188. Esrefoglu M. Experimental and clinical evidence of antioxidant therapy in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2012; 18(39):5533-41.
189. Zhang XP, Zhang L, Yang P, Zhang RP, Cheng QH. Protective effects of baicalin and octreotide on multiple organ injury in severe acute pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2008; 53(2):581-91.
190. Makhija R, Kingsnorth AN. Cytokine storm in acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2002; 9(4):401-10.
191. Bhatia M. Role of hydrogen sulfide in the pathology of inflammation. *Scientifica (Cairo)*. 2012; 2012:159680.
192. Papachristou GI, Clermont G, Sharma A, Yadav D, Whitcomb DC. Risk and markers of severe acute pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am*. 2007; 36(2):277-96.
193. Malleo G, Mazzon E, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. Role of tumor necrosis factor-alpha in acute pancreatitis: from biological basis to clinical evidence. *Shock*. 2007; 28(2):130-40.
194. Zhang S, Wang P, Zhao P, Wang D, Zhang Y, Wang J, Chen L, Guo W, Gao H, Jiao Y.

- Pretreatment of ferulic acid attenuates inflammation and oxidative stress in a rat model of lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2018; 32:394632017750518.
195. Ou ZB, Miao CM, Ye MX, Xing DP, He K, Li PZ, Zhu RT, Gong JP. Investigation for role of tissue factor and blood coagulation system in severe acute pancreatitis and associated liver injury. *Biomed Pharmacother*. 2017; 85:380-8.
196. Blamey SL, Imrie CW, O'Neill J, Gilmour WH, Carter DC. Prognostic factors in acute pancreatitis. *Gut*. 1984; 25(12):1340-6.
197. Niu C, Sheng Y, Zhu E, Ji L, Wang Z. Ferulic acid prevents liver injury induced by Diosbulbin B and its mechanism. *Biosci Trends*. 2016; 10(5):386-91.
198. Muhs BE, Patel S, Yee H, Marcus S, Shamamian P. Increased matrix metalloproteinase expression and activation following experimental acute pancreatitis. *J Surg Res*. 2001; 101(1):21-8.
199. Shields CJ, Winter DC, Redmond HP. Lung injury in acute pancreatitis: Mechanisms, prevention, and therapy. *Curr Opin Crit Care*. 2002; 8(2):158-63.
200. Bhatia M, Brady M, Shokuhi S, Christmas S, Neoptolemos JP, Slavin J. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *J Pathol*. 2000; 190(2):117-25.
201. Qiao YY, Liu XQ, Xu CQ, Zhang Z, Xu HW. Interleukin-22 ameliorates acute severe pancreatitis-associated lung injury in mice. *World J Gastroenterol*. 2016; 22(21):5023-32.

9. EK-1: ETİK KURUL ONAYI



ACIBADEM ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU TARİHİ: 10.11.2016	KARAR TARİHİ: 15.11.2016
BAŞVURU SAYISI: 2016/35	KARAR SAYISI: 2016/36

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Meltem KOLGAZI'nin yürütücüsü olduğu "Pankreas-safra kanalı bağlama yöntemi ile oluşturulan akut pankreatit modelinde ferulik asidin olası anti-inflamatuvar etkilerinin araştırılması" isimli proje başvurusu Acıbadem Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun "15.11.2016" tarih ve "29" sayılı toplantısında görüşülmüş ve etik açıdan

Uygun Düzeltilmesi Gerekir Koşullu Olarak Uygun Uygun Değil

olarak değerlendirilmiştir.

Kurul Üyesi	İmza	Karara Katılıyorum	Karara Katılmıyorum
Prof. Dr. Güldal Süyen (Başkan)		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. Dr. Serap Arbak (Başkan Vekili)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. Dr. İsmail Hakkı Ulus		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. Dr. Alp Bayramoğlu		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. Dr. Yeşim Işıl Ülman		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yrd. Doç. Dr. Devrim Öz Arslan		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yrd. Doç. Dr. Figen Demir		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sabiha Turgut Genç		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vet. Hek. Samed Özer (Sekreter)		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

10. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Sümeyye	Soyadı	Çilingir
Doğum yeri	Gölcük	Doğum Tarihi	01.09.1990
Uyruğu	T.C.	Telefon	507 346 4078
E-mail	sumeyye.clngr@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2013
Lise	Gölcük Barbaros Hayrettin Lisesi	2007

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Laboratuvar Teknisyeni	Kocaeli Acıbadem Hastanesi Multidisipliner Laboratuvarı	2014-2016

Yabancı Diller	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	İyi	Orta	Orta

Yabancı Dil Sınav Notu	
YÖKDİL	71,2

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	67,75	67,41	62,89

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanım Becerisi
Microsoft Office Word	İyi
Microsoft Office Power Point	İyi
Microsoft Excel	İyi

Yer aldığı Projeler:

Pankreas-safra kanalı bağlama yöntemiyle oluşturulan akut pankreatit modelinde ferulik asitin olası anti-inflamatuvar etkilerinin araştırılması” ABAPKO - Araştırmacı- devam etmektedir. (Proje Yürütücüsü: Dr. Öğretim Üyesi Meltem Kolgazi, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı)

Sıçanda endotoksemi modelinde vagal stimülasyonun olası antiinflamatuvar etkileri ve bu antiinflamatuvar etkilerde ghrelin, oreksin ve nesfatin-1 peptidlerinin rolü. TÜBİTAK-3501 kapsamında 214S185 No’lu Proje-Araştırmacı- devam etmektedir. (Proje Yürütücüsü: Dr. Öğretim Üyesi Meltem Kolgazi, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı).

*Sıçanda trinitrobenzen sulfonik asit (TNBS) ile indüklenen kolit modelinde sinapik asitin olası anti-inflamatuvar etkilerinin araştırılması*ABAPKO - **Araştırmacı-** tamamlandı. (Proje Yürütücüsü: Dr. Öğretim Üyesi Meltem Kolgazi, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı)

Sıçanlarda etanol ile oluşturulan gastrik mukozal hasar üzerine kafeik asitin koruyucu etkisinin araştırılması Acıbadem Üniversitesi Projesi -**Araştırmacı-** devam etmektedir. (Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Güldal Süyen, Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı).

*Sıçanlarda lityum-pilokarpin ile oluşturulan temporal lob epilepsisi modelinde kafeik asitin epileptogenez ve bilişsel-davranışsal değişiklikler üzerine etkisi*ABAPKO Projesi - **Araştırmacı-** devam etmektedir. (Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Güldal Süyen, Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı).

Katıldığı Kurslar:

Acıbadem Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 13 Mayıs-29 Mayıs 2016 tarihleri arasında düzenlenen “Deney Hayvanları Kullanımına Ait Eğitim” adlı sertifika programı

Yayınlar:

Uluslararası bilimsel toplantılarda sözlü ve poster olarak sunulan ve özet kitabında basılan poster ve bildiriler:

Kolgazi M., Kaya E., Oztosun G., Yalcin M, Oral S, Unan NZ., Cilingir S., Açikel-Elmas M., Atay N., Arbak S. Healing effect of p-coumaric acid on ethanol induced gastric damage. 13th multinational Congress on Microscopy, Croatia, 24-29 Eylül 2017.

Ulusal bilimsel toplantılarda sözlü ve poster olarak sunulan ve özet kitabında basılan poster ve bildiriler:

Arbak S., Kolgazi M., Arsoy E., Öztosun G., Yalçın M., Oral S., Ünán N., Cilingir S., Açikel-Elmas M., Atay N.

Sıçanlarda etanol ile oluşturulan deneysel ülser modelinde p-kumarik asitin iyileştirici etkisinin mikroskopik ve biyokimyasal düzeyde incelenmesi. 14. Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Antalya, 10-13 Mayıs 2018

Kılınç E., Kolgazi M., Kirikci G, Cilingir S. Endotoksemi ile indüklenen sepsiste vagus uyarısının anti-inflamatuvar etkileri üzerinde ghrelin'in etkisi. 28-29. Ulusal Biyofizik Kongresi, İstanbul, 6-9 Eylül, 2017.

Cilingir S., Kılınç E., Gamze Kırıkçı, Kolgazi M. LPS ile indüklenen sepsis modelinde Ghrelin ve Oreksin antagonistlerinin etkisi. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Düzce, 5-8 Eylül 2016.