

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

AKUT BİLİYER PANKREATİTLİ HASTALARDA TLR-4
VE IL-8 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Ender ANILIR
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL
Ekim 2014

**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**AKUT BİLİYER PANKREATİTLİ HASTALARDA TLR-4
VE IL-8 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Orhan ALİMOĞLU**

**Dr. Ender Anılır
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**İSTANBUL
Ekim 2014**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca benden bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, sanatını ve becerisini sabır ve özveriyle öğreten iyi bir genel cerrahi uzmanı ve hekim olma yolunda örnek alacağım değerli hocalarım Prof.Dr. Rafet Yiğitbaşı ve Op. Dr. Haydar Yalman'a, kıdemlilik dönemimdeki cerrahi beceri ve pratiğime olan katkılarından dolayı Prof.Dr. Orhan Alimoğlu'na ve 5 yıllık asistanlık sürecimde bana katkısı olan değerli uzmanlarıma, değerli kıdemli asistan arkadaşım Dr. Çağrı Bilgiç başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma, tüm servis ve ameliyathane çalışanlarına, tez hazırlama dönemindeki katkılarından dolayı Dr. Filiz Özen ve Dr. İbrahim Halil Yıldırım'a teşekkür ederim.

Dr. Ender Anılır

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR	iii
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
RESİM LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
3. MATERYAL VE METOD	35
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇLAR	56
7. KAYNAKLAR	57

KISALTMALAR

VİP:	Vazoaktif intestinal peptid
KGBP:	Kalsitonin gen ilişkili peptid
CCK-RP:	Kolesistokinin salgılatıcı peptid
CCK:	Kolesistokinin
PRSS1:	Katyonik tripsinojen kodlayan gen
PP:	Pankreatik polipeptid salgılayan
TNF-a:	Tümör nekroz faktör –a
IL:	İnterlökin
HMG:	Yüksek mobiliteli grup proteinleri
ACTH:	Adrenokortikotrop hormon
İGF:	İnsülin benzeri büyüme faktörü
ARDS:	Akut respiratuvar distress sendromu
NK:	Naturel killer (immun sistem hücresi)
DNA:	Deoksiribonukleik asit
mRNA:	Mesajcı ribonukleik asit
HSP:	Isı şok proteinleri
NF- κ B:	Nukleer faktör kappa B
Th: T	Lenfosit hepler
STAT:	Transkripsiyon sinyal taşıyıcısı ve ileticisi (Signal Transducer and Activator of Transcription)
SOCS:	Sitokin sinyal oluşumunun süpresörleri
JAK/STAT:	Janus kinaz transkripsiyon sinyal taşıyıcısı ve ileticisi
JAK:	Janus kinaz

MAPK:	Mitojen-Aktive protein kinaz
TLR:	Toll-like reseptörler
IL-1 RI:	İnterlökin- 1 reseptör inhibitörü
LPS:	Lipopolisakkarit
LBP:	LPS-bağlayıcı protein
CD:	Hücre yüzey antijeni
MD-2:	Lymphocyte antigen 96
CpG:	Cytosine phosphoguanosine
MYD88:	Myeloid differentiation primary response 88
IRAK:	IL-1 reseptör ilişkili kinaz
TRAF6:	Tümör nekrozis faktör reseptör-aktive edici faktör 6
MAPK:	Mitojen aktive protein kinaz
IL-1 RacP/ AcPL:	IL-1 reseptör aksesuar protein
PRR:	Patojen recognizing reseptör
ERCP:	Endoskopik retrograd kolanjiyopankreatografi
CRP:	C-reaktif protein
BT:	Bilgisayarlı tomografi
MRI:	Manyetik rezonans görüntüleme
MODS:	Multipl organ disfonksiyon sendromu
SİRS:	Sistemik inflamatuvar stres sendromu
DAMP:	Damage ilişkili moleküler patern
MDP-2:	Myeloid diferansiasyon proteini-2
TRAM:	TLR adaptör molekülü
TRIF:	TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β
IKK ϵ :	TRIF 1-k-beta kinaz epsilon
TBK1:	TANK bağlayıcı kinaz
TIR:	İnterelukin-1 (IL-1) receptor
TANK:	NF- κ b activator
IFN:	İnterferon
US:	Ultrasonografi
WBC:	White blood cell (lökosit)
ALT:	Alanin aminotransferaz
AST:	Aspartat aminotransferaz

MRCP:	Manyetik rezonans kolanjiyopankreatografi
NCSS:	Number Cruncher Statistical System
PASS:	Power Analysis and Sample Size
PCR:	Polimeraz chain reaksiyon
MFE-1:	Multifunctional enzyme type 1
SPSS:	Statistical Package for the Social Sciences
ABPG:	Akut biliyer pankreatit grubu
KG:	Kontrol grubu
ODDS:	Göreceli olasılık
YBÜ:	Yoğun bakım ünitesi
CTFR:	Cysctic fibrosis transmembrane condunctance regulator
CXCL-2:	Chemokine (C-X-C motif) ligand 2
AP-1:	Activator protein 1
MİP-2:	Macrophage inflammatory protein-2
AHNP:	Akut hemorajik nekrotizan pankreatit
MBL-2:	Mannose-binding lectin-2

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. BT’de Balthazar Sınıflaması ve Pankreatit Şiddeti	29
Tablo 2. Ranson Kriterleri	30
Tablo 3. APACHE-2 Skorlaması	30
Tablo 4. İnsanda Toll Like Reseptörlerin Bulunduğu Bölgeler ve Etki Alanı ve Revize Atlanta Kriterleri	31
Tablo 5: Gruplara Göre Demografik Özelliklerin Değerlendirilmesi...	39
Tablo 6: Gruplara Göre Biyokimya Parametrelerinin Değerlendirilmesi	40
Tablo 7: Balthazar Skoru’na Göre Hasta Dağılımı	41
Tablo 8: Operasyon Geçiren(ERCP, Kolesistektomi) ve Rekurrent Pankreatit Olan Hastalar	41
Tablo 9: US’de Safra Kesesi, Safra Yolları ve Pankreas Bulguları ...	41
Tablo 10: Atlanta Kriterlerine Göre Hasta Dağılımı	42
Tablo 11: Yatış Süresi, YBÜ Takibi ve Mortalite	42
Tablo 12: TLR4 Homozigot ve Heterozigot Allel Oranı ve Sonuçla ...	42
Tablo 13: IL-8 Homozigot ve Heterozigot Allel Oranı ve Sonuçlar ...	43
Tablo 14: Atlanta Kriterlerine Göre Genlerin Dağılımı	43

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1: Pankreas'ın Fizyolojisi ve Enzimlerin Salınım Kaskadı	15
Şekil-2: İnflamasyon kaskadı JAK/STAT, IRAK, TRAF	24
Şekil 3: İnflamasyonda NF-kB ve MAPK's ilişkili yolak	24
Şekil 4:TLR İlişkili Enflamasyon Kaskadı	25
Şekil 5. Akut Pankreatit Etiyolojisi	26
Şekil 6: Akut Pankreatit Nedenli SİRS ve MODS Gelişimi	33
Şekil 7: TLR-4 'ün TRIF ve TRAM Üzerinden İnflamasyonu Aktive Ettiği Yolak	34

RESİM LİSTESİ

Sayfa No

- Resim 1: Pankreas'ın Yerleşimi
Resim 2: Pankreas'ın Bölümleri
Resim 3: Pankreas'ın Bölümleri Ve Komşulukları
Resim 4: Pankreas'ın Arteriyel Beslenmes
Resim 5: Pankreas'ın Venöz Drenajı
Resim 6: Pankreas'ın Lenfatik Drenajı
Resim 7: Pankreas'ın İnnervasyonu
Resim 8: Wirsung Kanalı Ve Santorini Kanalı
Resim 9: Pankreas'ın Embriyolojik Gelişimi
Resim 10: Pankreas'ın Histolojisi
Resim 11: Pankreas Egzokrin Enzimlerin Salınımı

ÖZET

Giriş: Akut pankreatit günümüzde acil hastalıklar içerisinde önemli bir yer tutmakta ve mevcut tedavi yöntemlerine rağmen önemli bir morbidite ve mortalite sebebi olabilmektedir. Biliyer nedenler pankreatit etiyolojisi içerisinde sık rastlanan bir sebeptir. Akut biliyer pankreatit fizyopatolojisinde inflamasyon kaskadı ve buna bağlı organ, doku hasarı araştırılması gereken bir konudur. İnflamasyon sürecinde görev alan mediyatörler içerisinde Toll like reseptörler (TLR) ve interlökinler (IL) bilimsel çalışmalara yüksek oranda konu olmuştur. TLR4 ve IL-8'e ait genlerde görülebilen defekt ya da polimorfizmin bu hastalığa yatkınlık oluşturduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Akut biliyer pankreatitli hastalarda TLR-4 ve IL-8 gen polimorfizmlerinin sağlıklı populasyon ile karşılaştırılarak polimorfizm görülenlerin bu hastalığa yatkınlığı araştırıldı.

Metod: Mayıs 2010'dan itibaren servislerimize akut biliyer pankreatit tanısı ile yatırılan hastalar hastalardan retrospektif olarak ulaşabildiğimiz 115 hasta Akut biliyer pankreatit grubu (ABPG) olarak adlandırıldı. Daha önce safra taşı ve pankreatit öyküsü olmayan 105 sağlıklı birey ise Kontrol grubu (KG) olarak adlandırılarak, bu iki gruptaki TLR-4 ve IL-8 gen polimorfizmleri araştırıldı. Dicle Üniversitesi Genetik ve Mikrobiyoloji Anabilimdalı laboratuvarında yaptığımız bu çalışmada TLR-4 rs4986791 (Thr399Ile) CC, CT, TT allelleri kullanılarak ve IL-8 rs4073 (-251T/A) numaralı polimorfizmi için AA, TT ve AT allelleri incelenerek DNA parçacıkları üzerinden PCR yöntemi ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Hemolizli kan örnekleri nedeniyle 95 kişilik hasta grubunda ve 101 kişilik KG'de TLR-4; 90 hasta ve 100 kişilik KG'de IL-8 gen polimorfizmi tarandı. 95 hasta, 101 kişilik sağlıklı kontrol grubu ile TLR-4 rs4986791 (Thr399Ile) polimorfizmi açısından karşılaştırıldı. 89 hasta (%93) ve 80 kişilik kontrol grubunun

(%79) CC homozigot varyanta, 6 hasta (%0,6) ve 21 kişilik kontrol grubunun (%20) CT heterozigot varyanta sahip olduğu izlendi. TT homozigot varyant her iki grupta da izlenmedi. Khi kare yöntemiyle yapılan istatistiksel değerlendirmede TLR4 gen polimorfizminin ABPG'de, $p:0.003$ düzeyinde anlamlı olacak şekilde yüksek bulunduğunu tespit ettik. Yine aynı sebeplerle 90 hasta ile 100 kişilik KG karşılaştırılarak yapılan IL-8 rs4073 (-251T/A) numaralı polimorfizmi incelemesinde homozigot hasta sayısı 47 (%52), homozigot KG sayısı 41 (%41), heterozigot hasta sayısı 43 (%47), heterozigot KG sayısı 59 (%59) idi. Yine khi kare yöntemiyle yapılan analizde hasta grup ile sağlıklı kontrol grubu arasında fark görülmedi ($p>0.05$).

Sonuç: ABPG'de TLR4 gen polimorfizmi sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. TLR4 biliyer pankreatit gelişiminde önemli bir role sahip olabilir. IL-8 akut biliyer pankreatitte sağlıklı kişilere göre farklı bir genetik polimorfizm göstermemektedir. Daha yüksek hasta popülasyonu üzerinde çalışmalar yapılırsa daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir.

Anahtar kelimeler: Pankreatit, TLR4, IL-8, polimorfizm, bil

ABSTRACT



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreas sindirim sisteminin önemli bir parçası olmakla birlikte hayati fonksiyona sahip bir organdır. Besinlerden yüksek seviyede faydalanma ve besinlerden elde edilen vücut için gerekli moleküllerin oluşumunda, salgıladığı ve kontrol ettiği enzimler nedeniyle hayati bir fonksiyona sahiptir. Bununla birlikte kan şekerinin regülasyonu, vücut dolaşım ve hücrelerarası sisteminde denge oluşturan moleküllerin salınımı önemli fonksiyonları arasında sayılabilir. Pankreas hastalıkları yaşam kalitesini oldukça bozmakta, sindirim sorunlarına neden olmakta, dolaşım sistemi ve diğer organlarla olan moleküler dengeyi etkilemektedir. Pankreas hastalıkları arasında iltihabi hastalıklar, tümörler, doğumsal anomaliler, sindirim sistemine yapılan girişimsel ve operatif işlemler sonucu oluşan komplikasyonlar gösterilebilir. Pankreasın iltihabi hastalıklarından bahsedecek olursak safra taşları ve alkol başta olmak üzere, enfeksiyöz, otoimmün, hiperlipidemi nedenli ve idiyopatik kaynaklı hastalıklar başlıca söylenebilir. Pankreasın iltihabi hastalığı olarak bahsettiğimiz pankreatit akut ve kronik olarak ayrılmaktadır. Pankreasın safra taşı kaynaklı olan iltihabı olarak nitelendirebileceğimiz akut biliyer pankreatit incelenmesi gereken, şiddetli seyretmesi durumunda hayati fonksiyonları bozabilen ve ölümle sonuçlanabilecek bir süreci tetikleyen ciddi bir hastalıktır. Akut biliyer pankreatitin etiolojisinde ve patofizyolojisinde safra kesesi ya da safra yolları kaynaklı taşların/çamurun pankreas kanalının duodenuma açıldığı papilla vateriyi ya da safra kanallarını tıkaması nedeniyle basınç artışı oluşumu sonucu pankreatik kanaldan salınan litik enzimleri içeren salgının pankreasta oluşturduğu harabiyet söylenebilir. Bahsedilen mekanik neden dışında moleküler ve genetik araştırmalar ile “neden her insanda görülmediği” ortaya konmaya çalışılmıştır. Birçok hayvan deneyi

ve insanlardan alınan örnekler ile bu patofizyoloji aydınlatılmaya çalışılmıştır. Pankreasta hastalık nedeniyle oluşan iltihabi süreç moleküler temelde incelenmiş, inflamasyon yolağı dediğimiz immun kaskad ile ilgili önemli araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar içerisinde inflamasyonun bilinen her aşaması incelenmeye çalışılmış ve TLR ailesi dediğimiz özel reseptör tanıyıcıları ve IL olarak bilinen inflamatuvar moleküller araştırmaların yoğunlaştığı mediyatörler olmuştur. Akut biliyer pankreatit bilindiği üzere mekanik bir tıkanıklık sonucu oluşmaktadır.

Bununla birlikte "safra taşı olan her insanda biliyer pankreatit olmamasının altında genetik bir yatkınlık rol oynuyor olabilir mi?" sorusuna cevap bulmak amacıyla yaptığımız çalışmamızda TLR4 ve IL-8 polimorfizminin hastalık üzerindeki etkisini incelemeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

AMAÇ

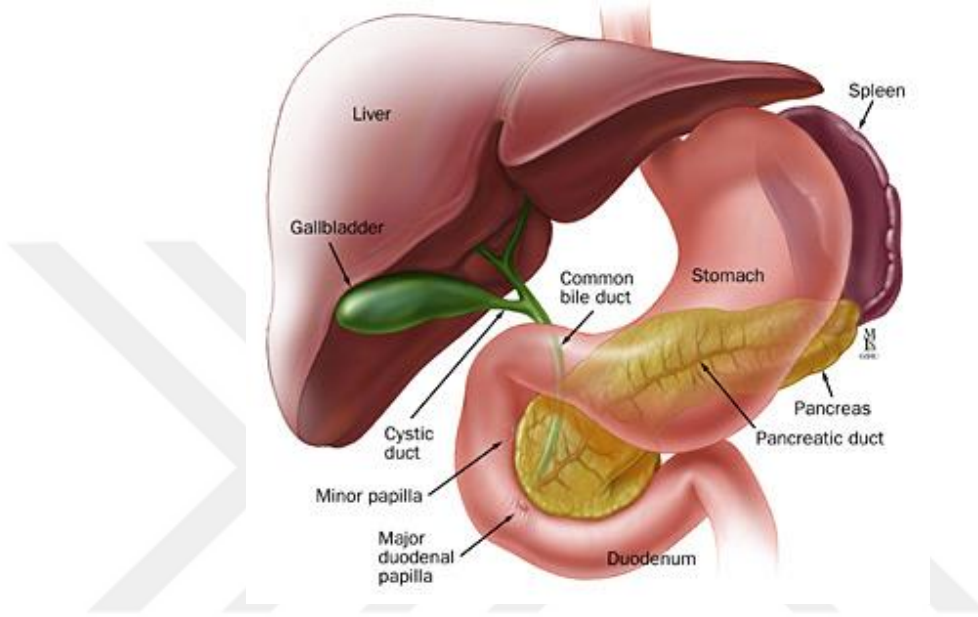
Akut biliyer pankreatitli hastalarda TLR-4 ve IL-8 gen polimorfizmlerinin sağlıklı populasyon ile karşılaştırılarak polimorfizm görülenlerin bu hastalığa yatkınlığı araştırıldı.

TARİHÇE

Pankreatit tarihte ilk defa 1579 yılında Fransız cerrah Ambrose Pare tarafından tanımlanmıştır. 1856 yılına gelindiğinde ise Ancelet pankreatiti akut, gangreanöz ve peripankreatik abse olarak ayırmıştır. 1886 senesinde Nikolas Senn pankreas absesi ve gangreninde cerrahi tedaviden söz etmiştir. Hastalığı hemorajik, süpüratif ve gangrenöz olarak sınıflayan Reginald Filtz 1889 yılında akut pankreatit ve komplikasyonlarının patofizyolojisini yayınlamıştır. 1901 yılında Opie otopsi sırasında pankreatitten ölmüş bir hastanın safra yolunda safra taşı göstermiştir. Ampulla, koledok, wirsung anatomisini ve bunların obstruksiyonunun pankreatite neden olduğunu göstermiştir. Acosta ve Lodesma akut pankreatit geçiren hastaların dışkılarında safra taşı sık saptamaları nedeniyle safra taşı migrasyonunun ve papillada geçici tıkanmanın önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. 1992 yılında Atlanta’da uluslararası bir sempozyumda pankreatitin çeşitli derecelerde etkilendiği lokal doku ve organ sistemlerinin iştirak edebildiği enflamatuvar bir süreç olarak tanımlanmıştır.

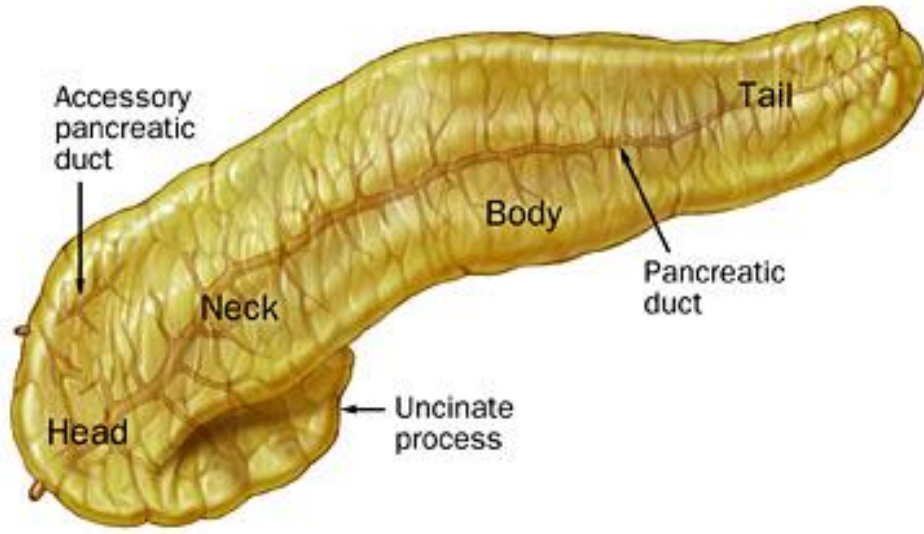
ANATOMİ

Pankreas retroperitoneal olarak üst karında, küçük pmentum ve midenin arkasında uzanır. Pankreas yatay olarak genişleyerek, duedonal C loop'unun medial kenarından dalağın hilusuna doğru uzanım gösterir. Organ inferior vena cava, aorta, splenik ven ve sol adrenal bezin önünde uzanır (Resim 1) (1).

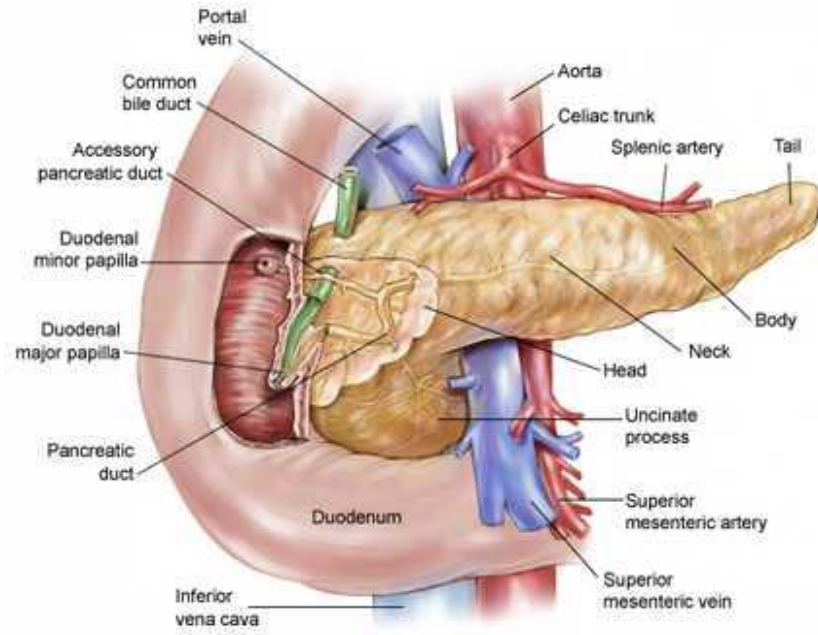


Resim 1- Pankreas'ın Yerleşimi

Pankreas 4 bölüme ayrılmıştır: baş/uncinat çıkıntı, boyun, gövde ve kuyruk (Resim 2). Baş duedonal Cloop içinde bulunur ve baş kısmının unsinat çıkıntısı posterior'e ve medial'e ilerleyerek portal/superior mezenterik ven ve superior mezenterik arter arkasında uzanır. Pankreasın boyun kısmı medial olarak genişleyerek bu damarların önünde bulunur. Gövde kısmı boyundan laterale, dalağa doğru uzanırken kuyruk kısmı splenik hilus içerisinde ilerler (Resim 3) (1).

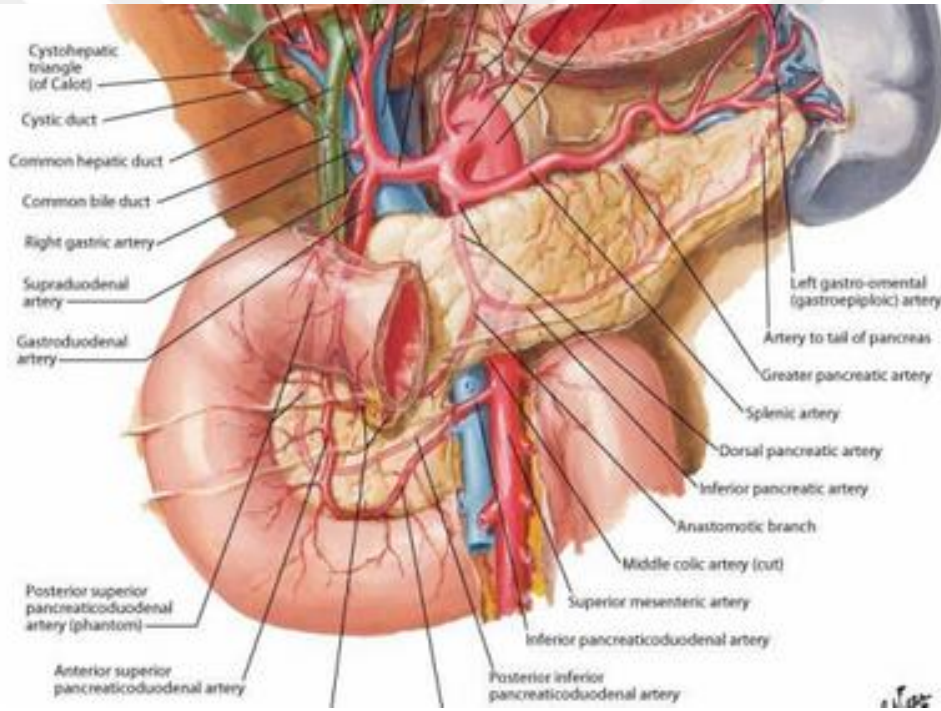


Resim 2 – Pankreas'ın Bölümleri

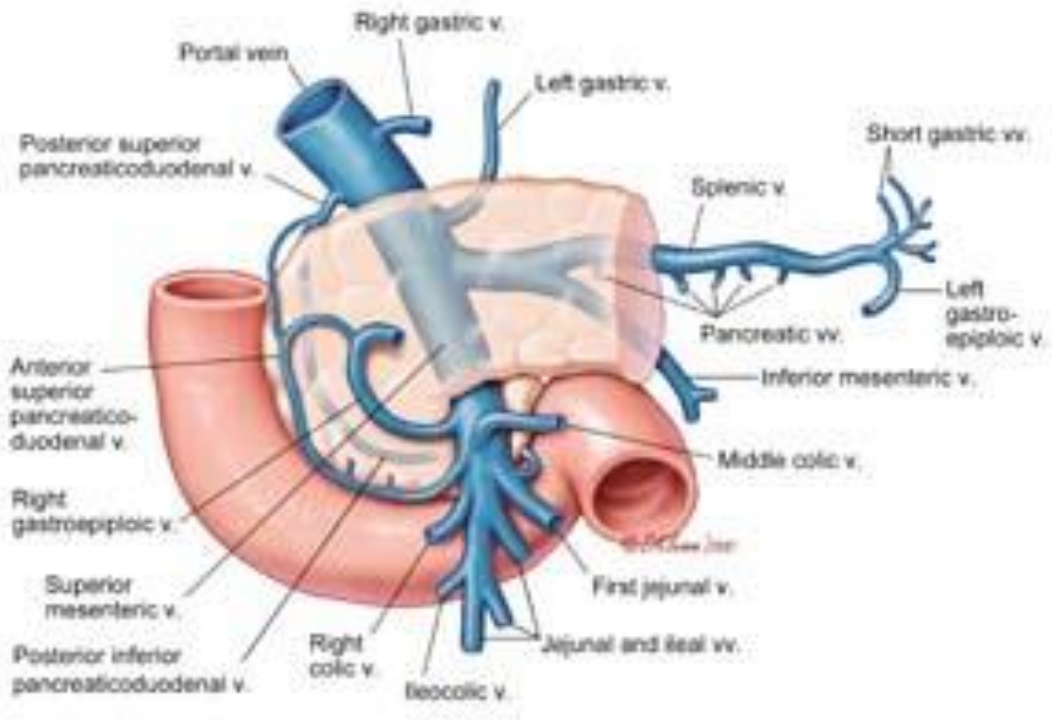


Resim 3 – Pankreas'ın Bölümleri ve Komşulukları

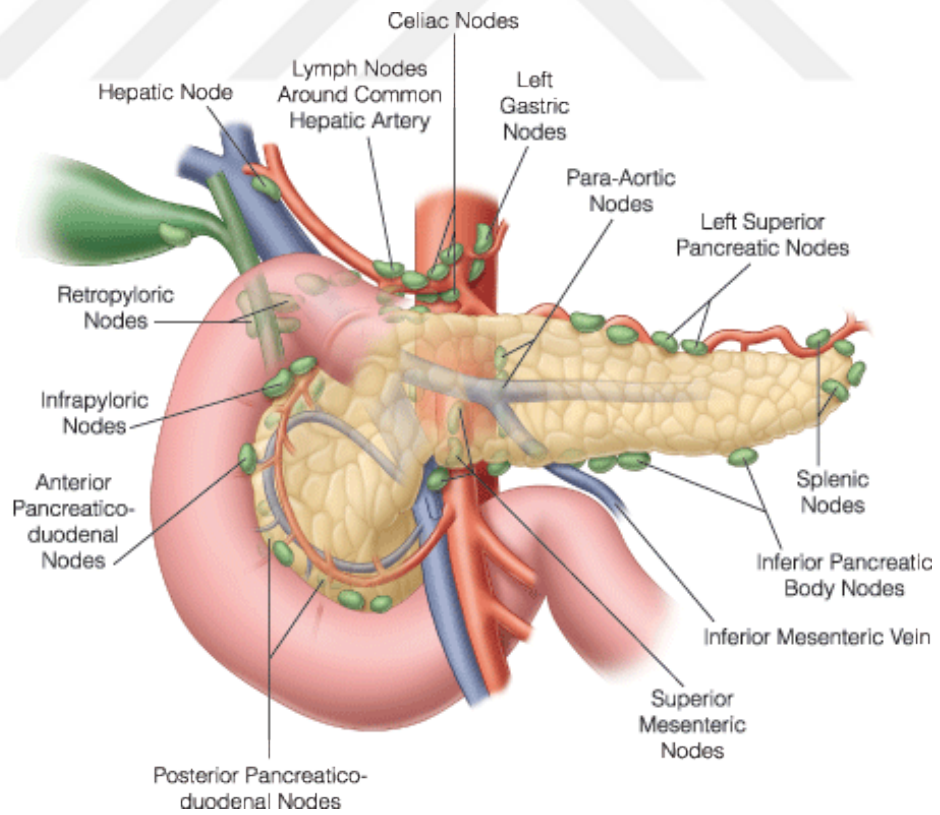
Pankreas arteriyel beslenmesi hem çölyak trunkus hem de superior mezenterik arterden sağlanır. Varyasyonlar sık olmasına rağmen gövde ve kuyruk kısmı sıklıkla splenik arterin dalları ile beslenirken, baş ve unsinat çıkıntı çölyak arterin hepatik/gastrodudonal dallarından kaynaklanan arkatlar ve superior mezenterik arterin ilk dalından beslenir (Resim 4). Venöz drenaj splenik, superior mezenterik ve portal venler ile sağlanır (Resim 5). Pankreas multipl lenf nodu grupları ile drene edilir. Pankreas başı ve unsinat çıkıntının majör drenajı subpilorik, portal, mezenterik, mezokolik ve aortokaval lenf nodlarıdır. Pankreas gövde ve kuyruğu sıklıkla çliak, aortokaval, mezenterik ve mezokolik gruplar ile splenik hilusdaki nodlar yolu ile drene edilir (Resim 6) (1).



Resim 4 –Pankreas'ın Arteriyel Beslenmesi

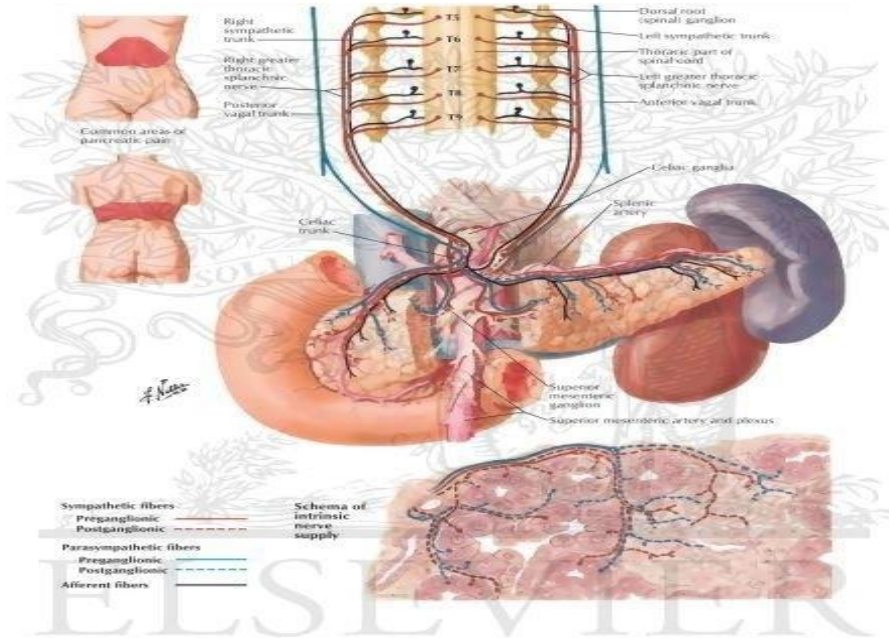


Resim 5 – Pankreas'ın Venöz Drenajı



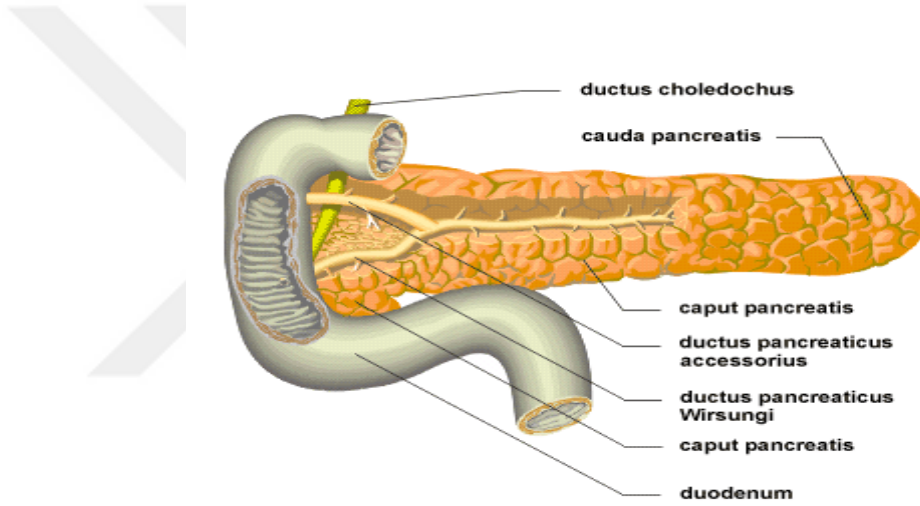
Resim 6 – Pankreas'ın Lenfatik Drenajı

Pankreas otonom sinir sisteminin hem sempatik hem de parasempatik yolları ile innerve edilir. En önemli ve muhtemelen tek olan pankreatik ağrı yolu, pankreastan doğan ağrı verici uyarıları beyin merkezine ileten lifleri kapsar. Bunlar çölyak gangliyondan geçerek daha büyük, daha küçük, en küçük splenik sinirleri oluşturur ve torasik sempatik zincir içindeki hücrelere ulaşır. Pankreas'ın efferent visseral motor kaynağı hem sempatik hem parasempatik sistemlerce sağlanmaktadır. Parasempatik sistem posterior vagal trunkustan çölyak pleksusa doğru seyahat eden vagal çekirdekler içindeki hücrelerden doğan pregangliyonik lifleri içerir. Postgangliyonik lifler pankreatik adacıklar, aciner kanallar ve kan damarlarını innerve eder. Genellikle pankreasın sinirleri organı besleyen kan damarları ile birlikte bulunur (Resim 7) (1). Asiner hücreler egzokrin, adacık hücreleri endokrin salgıdan sorumludur. Adacık damarlarısempatik ve parasempatik sistem tarafından innerve edilir. Parasempatik sistem endokrin ve egzokrin fonksiyonları uyarır, sempatik sistem ise bu sekresyonları baskılar. Pankreas somatostatin, vazoaktif intestinal peptid (VIP), kalsitonin gen ilişkili peptid (KGBP) ve galanin gibi salgılanan aminler ve peptidlerce uyarılan nöronlar tarafından da innerve edilir. Bu nöronların pankreatik fizyolojideki rolü tam olarak bilinmemektedir ancak endokrin ve ekzokrin fonksiyonların her ikisini de etkilediği gözlenmektedir (2).



Resim 7 – Pankreas'ın İnnervasyonu

Ana pankreatik kanal olan wirsung kanalı, pankreas kuyruğundan doğar ve duodenumdaki papilla vateri’de sonlanır. T12 ve L2 arasındaki vertebral kolon’u geçer. Kanal pankreas’ın kuyruğu ve başı arasında superior ve inferior kenarlar arasında çizilen çizginin ortasında hafifçe yukarı doğru uzanır. Ayrıca kanal anterior’dan çok posteriorda yerleşim gösterir. Erişkinlerde pankreasın baş kısmındaki kanal çapı 3.1 mm ile 4.8 mm arasında ve kuyruğa ilerledikçe kademeli olarak incelerek 0.9 mm ile 2.4 mm arasında olur. Yaş ile kanal çapı artar. Santorini kanalı (minör ya da aksesuar pankreatik kanal) ana kanaldan daha küçüktür. Ana kanaldan ayrılarak küçük papillada duodenuma girer. Bu papilla, majör papilla’nın yaklaşık olarak 2 cm proksimalinde ve hafifçe anteriorde bulunur (Resim 8).

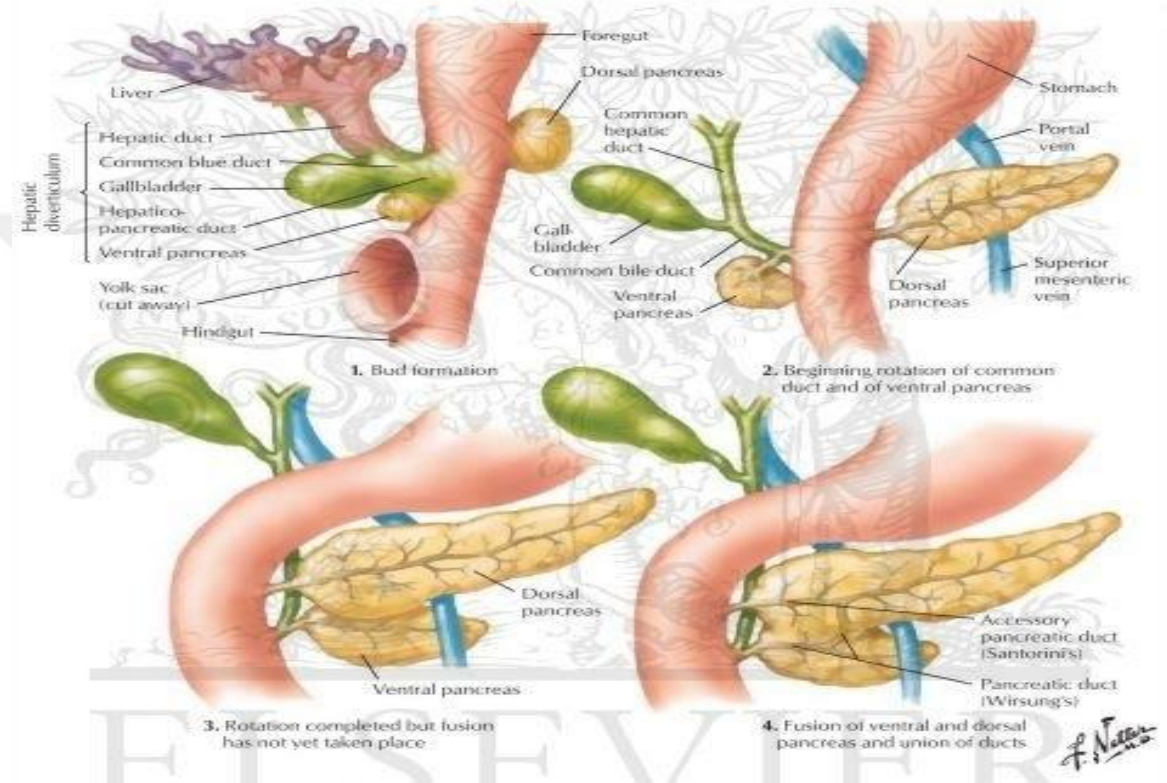


Resim 8 – Wirsung Kanalı Ve Santorini Kanalı

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ

Hepatik tomurcuk karaciğer, safrakesesi ve safra kanallarına dönüşürken, arka pankreatik tomurcuk pankreasın gövde ve kuyruğunu oluşturur. Gestasyonun 32.gününde bu hepatik tomurcuk pankreas’ın unsinat çıkıntısı ve başının alt kısmını oluşturacak olan ventral pankreatik tomurcuğu doğurur. Arka pankreatik tomurcuk abdomeni transvers olarak geçerek, mezenterik ve portal venlerin önünde uzanır. Zamanla duodenum, C loop konfigürasyonu’na dönerken ventral pankreas ve distal safra kanalı duodenum arka kısmında saat yönünde rotasyon yapar. Son olarak

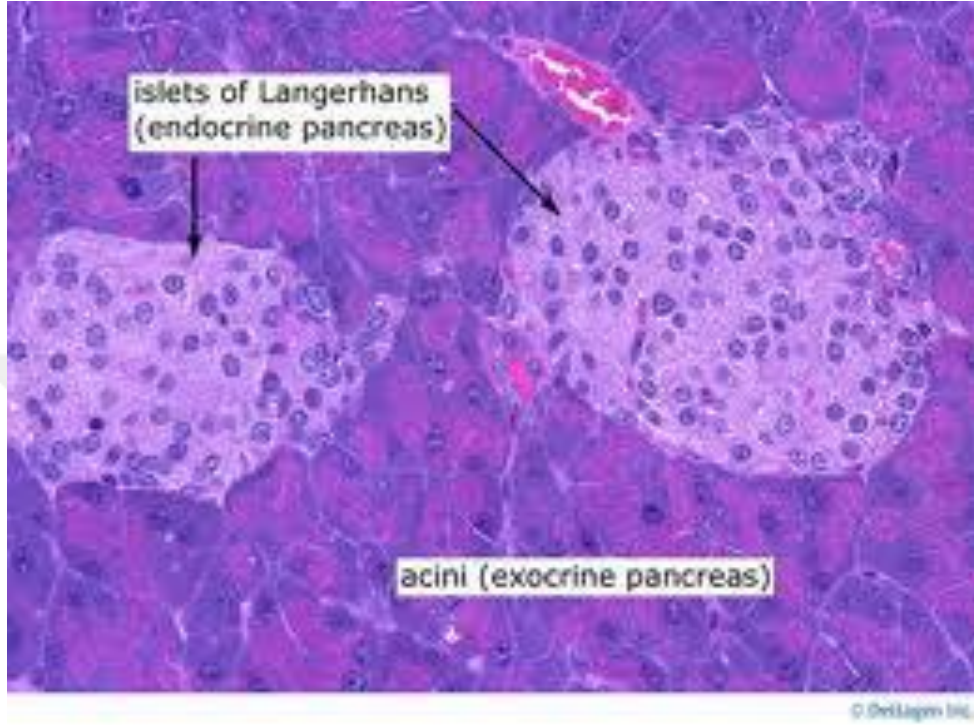
duedonum'un medial kısmı dorsal pankreasın aşağısında ve hafifçe arkasında ayrıca mezenterik ve portal damarların arkasında Gestasyonun 4.haftasında duedonumdan iki endodermal tomurcuk doğar. uzanır. Gestasyonun 37. Gününde iki pankreatik tomurcuk füzyona uğrar ve kişilerin %90'ında kanal sistemi birleşir (Resim 9) (1).



Resim 9 – Pankreas'ın Embriyolojik Gelişimi

Matür pankreas langerhans adacıklarından, asiner ve duktal hücreler içeren ekzokrin doku'dan oluşmuş endokrin bir organdır. Üzüm salkımına benzeyen şekillerinden dolayı asiner hücreler olarak isimlendirilen hücreler sekresyonlarını santral yerleşmiş asiner boşluğa salgırlar. Bu boşluk ana pankreatik kanalla ilişkilidir. Pankreastaki hücrelerin çoğu asiner hücrelerdir. Kanal hücreleri pankreas kitlesinin sadece %5'ini oluştururlar. Histolojik olarak asiner hücreler yüksek oranda endoplazmik retikulum ve apikal olarak yerleşmiş eozofilik zimojen granüller içerirler. Ana pankreatik kanal boyunca uzanan hücreler uzun kolumnar hücrelerdir ve müsün granülleri içerirler. Büyük kanallardan küçük intralobüler ve ünter lobuler kanalların gelişmesi ile hücreler yassılaşıp, küçük kuboidal şekil alır ve müsün

granüller artık kaybolur. Sentroasiner hücreler acini ve kanallar arasındaki bileşkede yerleşmiştir, büyüklük ve şekil olarak asiner hücrelere benzer ancak zimojen granülleri yoktur (Resim 10) (1).



Resim 10 – Pankreas'ın Histolojisi

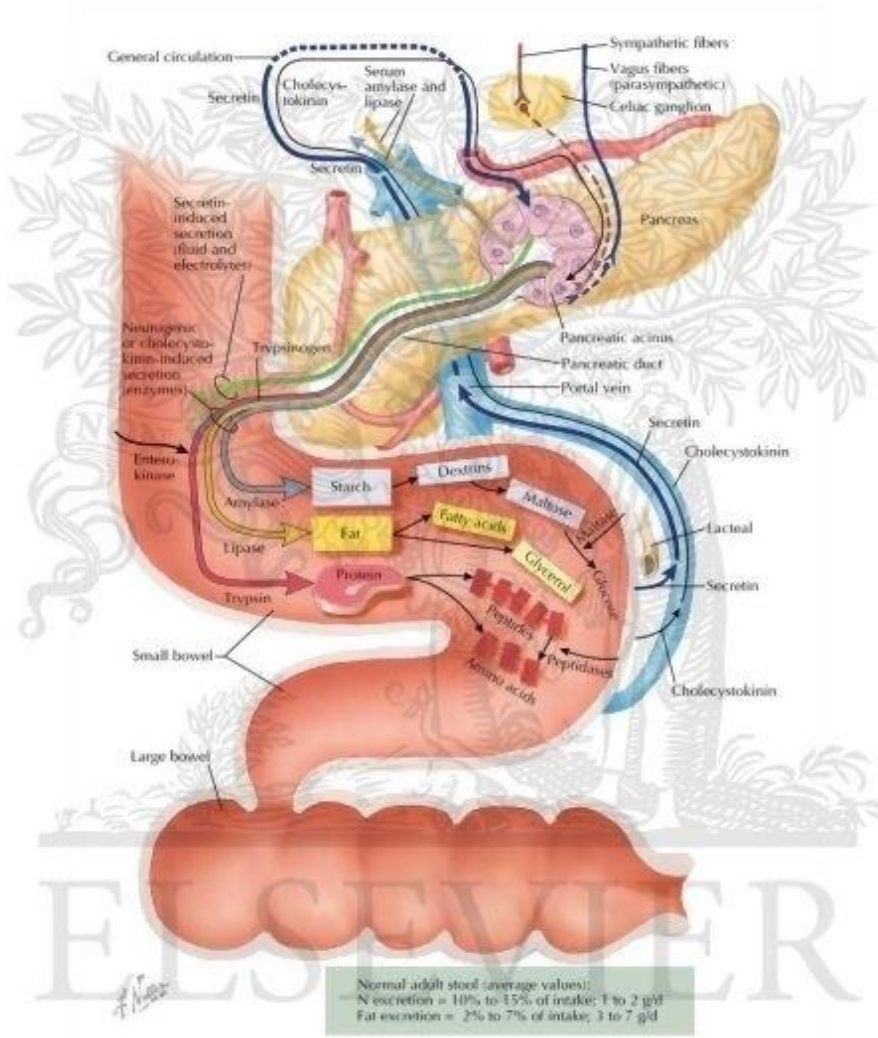
FİZYOLOJİ

Endokrin ve egzokrin pankreas bazen fonksiyonel olarak iki ayrı organ olarak düşünülür, ancak organın bu iki ayrı komponenti sindirim enzimleri ve hormon sekresyonlarını düzenlemek için titiz bir feedback sistemiyle koordineli bir şekilde çalışır. Bu karmaşık sistem sindirim tipini, hızını ve emilen besinlerin işlenmesini ve dağıtımını düzenler. Adacıkların ve egzokrin pankreasın fiziksel olarak yakınlığı, pankreatik asiner hücrelerinin plazma membranındaki özel adacık hormon reseptörlerinin varlığı ve adacık-asiner portal sistemin olması koordinasyonun oluşumunu kolaylaştırır. İnsülin ve sindirim enzimlerinin replasmanı yapıldığında pankreası olmayan hastalar yaşayabilmelerine rağmen, bu asiner adacık koordinasyon kaybı sindirim fonksiyonlarının bozulmasına neden olur (1).

Egzokrin pankreas: Pankreas bir günde yaklaşık olarak 500-800 ml, renksiz, kokusuz, alkali ve izoosmotik bir sıvı salgılar. Pankreatik sıvı asiner hücre ve kanal

hücrelerin sekresyonlarının bir karışımıdır. Asiner hücreler üç tip besinin (karbonhidrat, yağ ve protein) sindirilmesinden sorumlu olan amilaz, proteaz ve lipaz salgırlar. Asiner hücrelerin tepesi asinus lümenine doğru olan piramide benzerler. Her hücrenin apeksine yakın, çok sayıda enzim içeren zimojen granüller vardır ve bu granüller apikal hücre membranına yapışıkır. Tek tip hormon salgılayan özelleşmiş adacık hücrelerinin tersine, asiner hücreler her tip enzim sekrete ederler. Ancak, salgılanan bu farklı enzimlerin oranı yenilen gıdanın kompozisyonuna göre sekresyonun “nonparalel” regülasyonu yoluyla ayarlanır. (1).

Pankreatik amilaz, aktif form şeklinde salgılanır ve tükürük amilazının başlattığı sindirim sürecini tamamlar. Pankreas tarafından aktif formu salgılanan tek enzim olan amilaz nişasta ve glikojeni glikoz, maltoz, maltotrioz ve dekstrine hidroliz eder. Bu basit şekerler intestinal epitelin fırçamsı kenarından aktif taşıma mekanizması ile taşınırlar. Proteinlerin gastrik hidrolizi sonucu oluşan peptidler intestine girer ve intestinal endokrin hücreleri uyarak pankreastan intestine enzim ve bikarbonat salgılanmasını stimüle eden kolesistokinin salgılatıcı peptid (CCK-RP), kolesistokinin (CCK) ve sekretin salgılatır (Resim 11) (1).



Resim 11 – Pankreas Egzokrin Enzimlerin Salınımı

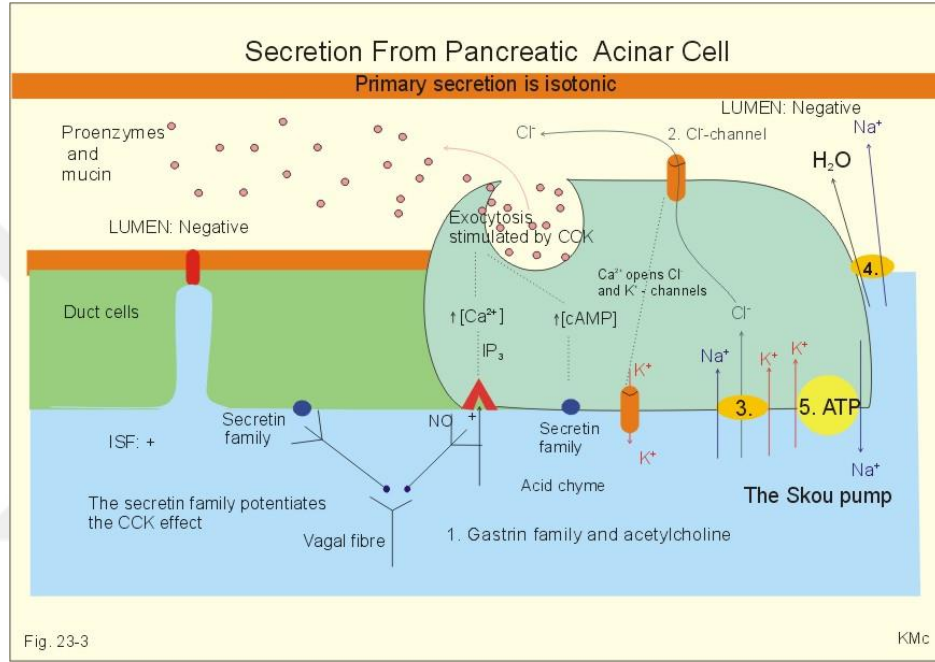
Proteolitik enzimler aktive olmayı gerektiren proenzimler olarak salgılanırlar. Tripsinojen, duodonal mukoza hücrelerinde üretilen enterokinaz enzimi tarafından aktif formu olan tripsine dönüşür. Tripsin diğer prteolitik enzimleri aktif hale getirir. Pankreas içinde tripsinojenin aktive edilmesi, asiner hücreler tarafından salgılanan inhibitörlerin varlığıyla baskılanır. Tripsinojen birçok iziform halinde salgılanır ve katyonik tripsinojen veya PRSS1'in "missense" mutasyonu tam olgunlaşmama ve intrapancreatik tripsinojen aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu, ailesel pankreatit olgularının üçte ikisinden sorumludur. Kimotripsinojen kimotripsin'e aktive edilir. Elastaz, karboksipeptidaz A ve B, fosfolipaz'da tripsin aracılığıyla aktive hale getirilir. Tripsin, kimotripsin ve elastaz hedef peptid zincirin aminoasitleri arasındaki bağları parçalar; karboksipeptidaz A ve B ise peptid zincirin son kısımlarındaki aminoasitleri ayırır. Daha sonra serbest aminoasitler ve küçük dipeptidler intestinal

epitel hücreleri içine aktif transportla taşınır. Pankreatik lipaz trigliseridleri 2-monogliserid ve yağ asidine hidrolize eder. Pankreatik lipaz aktif olarak salınır. Kolipaz da pankreas tarafından salgılanır ve lipaza bağlanarak konfigürasyonda değişiklik yapar ve lipazın aktivitesini artırır. Fosfolipaz A2 tripsin tarafından aktif hale getirilebilen proenzim olarak pankreastan sekrete edilir. Fosfolipaz A2 fosfolipidleri hidrolize eder ve tüm lipazlarda olduğu gibi bu aksiyonu için safra tuzlarına ihtiyaç duyar. Karboksilik ester hidrolaz ve kolesterol esteraz ederek kolesterol esterleri, yağda eriyen vitaminler ve trigliserid gibi nötral lipidleri hidrolize eder. Hidrolize olmuş yağ, miçellerde paketlenerek intestinal epitelyal hücrelerine taşınır, burada yağ asitleri tekrar bir araya gelerek şilomikronlar etrafında sistem aracılığıyla kan dolaşımına katılır (1, 2).

Sentroasiner ve “interkaled” kanal hücrelerince pankreatik sıvıda bulunan su ve elektrolitler salgılanır. Yaklaşık 40 asiner hücre sferik bir ünite içinde dizilir ve bu oluşum asinus olarak adlandırılır. Sentroasiner hücreler asinusun merkezine yakın olarak yerleşmiştir ve sıvı elektrolit sekresyonundan sorumludur. Bu hücreler bikarbonat sekresyonu için gerekli olan karbonik anhidraz enzimini içerirler. Salgılanan bikarbonatın miktarı pankreatik salgının miktarına bağlı olarak değişkendir, bikarbonat sekresyonun büyük bölümü pankreatik salgının artmasıyla artar. Klorid salgılanması bikarbonat sekresyonuyla ters orantılıdır ve ikisinin toplam değeri değişmez. Buna karşın, sodyum ve potasyum konsantrasyonları salgı hızı değişse bile sabit kalır. Asidik içeriğin pilordan duodonuma geçmesine reaksiyon olarak duodonal mukoza hücrelerinden sekretin hormonu salgılanır. Sekretin mideden duodonuma giren asidik sıvıyı tamponlayan bikarbonatın sekresyonunun majör uyarandır. CCK de bikarbonat sekresyonunu stimüle eder, ancak etkisi sekretinden azdır. Her ikisi de gastrik asit sekresyonunu stimüle eden gastrin ve asetilkolin de pankreatik bikarbonat sekresyonunun zayıf uyarıcılarıdır. Trunkal vagotomi işleminin pankreasa olan etkisi bikarbonat ve sıvı sekresyonunun azalması şeklindedir. Endokrin pankreasta komşu egzokrin pankreatik sekresyonlarını etkiler. Somatostatin, pankreatik polipeptid, glukagon egzokrin sekresyonları baskılar. (1)

Asiner hücreler pankreatik enzimlerin zimojen granüllerini asinus lümeni içine salgılar; bu proteinler sentroasiner hücrelerin sekrete ettiği su ve bikarbonatı kombine ederler. Pankreatik sıvı daha sonra küçük interkaled kanalcıklara taşınır.

Birçok küçük kanalcık birleşerek interlobüler kanalı oluşturur. İnterlobüler kanal hücreleri de sıvı ve elektrolit salgılamaya devam ederek pankreatik sıvının son konsantrasyonuna katkıda bulunurlar. İnterlobüler kanallar da birleşerek ana kanala dökülen yaklaşık 20 kadar olan sekonder kanalı oluştururlar. Tekrarlayıcı inflamasyon, skar ve taş birikimi duktal ağaçta dekstruksiyona, sonuçta endokrin ve egzokrin pankreas yetmezliğine neden olur (Şekil 1) (1).



Şekil 1 – Pankreas'ın Fizyolojisi ve Enzimlerin Salınım Kaskadı

Endokrin pankreas: langerhans adacıklarında bulunan glukagon salgılayan alfa, insülin salgılayan beta, somatostatin salgılayan delta ve pankreatik polipeptid salgılayan PP hücreleri tarafından oluşturulur. Egzokrin pankreasın kanlanması büyük kısmı pankreatik arteriyel akımdan olsa da adacık kapillerinden drene olan kan egzokrin pankreası perfüze etmeye devam etmektedir. Asiner hücrelerin adacıklarından gelen venöz kanla perfüzyonu endokrin pankreasın egzokrin pankreası etkilemesini sağlamaktadır. Örneğin; sindirilmiş yemekteki yüksek karbonhidrat düzeyleri tarafından uyarılmış insülin salgısının nişasta ve şekerlerin sindirimini sağlayan amilazdan zengin egzokrin sekresyonu artırdığı düşünülmektedir (1).

İNFLAMASYON VE HÜCRE YANITI

Hasara inflamatuvar yanıt ve hücresel işlemlerin başlaması, doku fonksiyonunu onarmak ve invaze olmuş mikroorganizmaları eradike etmek için genetik olarak dizayn edilmiştir. Kısa süren lokal hasarlar genellikle çok az hasarla tam fonksiyonel restorasyonla iyileşmektedir. Buna zıt olarak, hasara verilmiş aşırı inflamatuvar cevap, eğer uygun süre ve şekilde değilse, çoklu organ yetmezliğine sebep olup hasta yaşam süresine negatif etkiler yaratabilir (2) .

SİSTEMİK İNFLAMATUAR YANIT SENDROMU(SİRS)

Konsept olarak hasara sistemik yanıt iki faz'da incelenebilir. Proinflamatuvar faz; doku fonksiyonunu restore etmek ve invaze olan mikroorganizmaları eradike etmek için dizayn edilmiş hücresel prosesin aktivasyonu ile karakterizedir. Diğer anti-inflamatuvar veya karşı düzenleyici faz (counterregulatory phase); bireyde hemostazisi onarmak kadar fazla proinflamatuvar aktiviteden doğacak hasarı önlemekle karakterizedir (2).

İNFLAMASYONUN MERKEZİ SİNİR SİSTEMİNCE DÜZENLENMESİ

İnflamasyonun refleks inhibisyonu

Merkezi sinir sistemi, otonomik sinyallerle işlem gören inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde vazgeçilmez bir role sahiptir ve istem dışı çalışır. Klasik olarak otonomik sistem; kalp hızını, kan basıncını, gastrointestinal motiliteyi ve vücut ısısını düzenler. Otonomik sistemin bu özelliklere ek olarak patellar refleks gibi çalışan inflamasyonun düzenleme rolü vardır. İnflamasyonun olduğu spesifik bir bölgeden kalkan afferent sinyaller hipotalamusa ulaşır ve hızlıca immunosit denen araçlarla inflamatuvar medyatör salınımını azaltıcı etki gösterir (2).

Beyne giden afferent sinyaller

Merkezi sinir sistemi hem dolaşımdan hem de nöral arayolaklardan immunolojik bilgi alır. Gerçekten de merkezi sinir sisteminde mevcut kan-beyin bariyeri olmayan bölgeler tümör nekroz faktör (TNF-a) gibi inflamatuvar mediyatörlere giriş izni verir. Ateş, anoreksi ve depresyon gibi hastalık göstergeleri inflamatuvar sinyallerin dolaşımsal yola katılması ile gerçekleşir. Vagal duyuşal input alım işlemi tam olarak anlaşılmassa da, vagus'a gelen afferent uyarılar sitokinler (örnek olarak; TNF-a ve interlökin (IL-1), baroreseptörler, kemoreseptörler ve termoreseptörler aracılığıyla (2).

Kolinerjik anti-inflamatuvar yollar

Tracey ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, inflamasyonun refleks inhibisyonunu parasempatik sinyal oluşum arayolağına bağlamışlardır. Parasempatik sistemin ana nörotransmitteri olan asetilkolin dokuda makrofaj aktivasyonunu azaltmaktadır. Dahası, kolinerjik uyarım TNF-a, IL-1, IL-18 ve yüksek mobiliteli grup proteinleri (HMG-1) gibi proinflamatuvar mediyatörlerin salınımını direk olarak azaltmaktadır, fakat bu gruba anti-inflamatuvar sitokin olan IL-10 dahil değildir. Kolinerjik uyarı ile azaltılan inflamatuvar yanıtı, daha sonra doku makrofajları üzerinde tespit edilen asetilkolin (nikotinik) reseptörlerin tanımlanmasıyla desteklenmiştir.

Hasara inflamatuvar yanıtın oluşmasında hormonal yanıt ve sitokinler (inflamasyon mediyatörleri) önemli rol oynamaktadırlar. ACTH, kortizol, glukokortikoid hormonlar, büyüme hormonları ve insülin benzeri büyüme faktörü (İGF), katekolaminler inflamasyon kaskadında rol alan hormonlar olarak gösterilebilir (2).

İnflamasyon mediyatörleri

Sitokinler: inflamatuvar yanıtta en potent mediyatörler gibi gözükmektedir. Hasar merkezinde lokal olarak fonksiyon gösterirken sitokinler; invaze olan mikroorganizmaları eradike ederler ve yara iyileşmesini artırır. Fakat, hasara yanıt olarak oluşan sitokinlerin aşırı üretimi hemodinamik instabilite (septik şok gibi) ve metabolik bozukluğa (kas kitlesinde azalma gibi) yol açabilir. Eğer kontrol edilmezse bu aşırı artmış yanıt son organ yetmezliği ve ölüme yol açabilir. İnflamasyon kaskadının ara ürünlerinden olan anti-inflamatuvar sitokinler, proinflamatuvar sitokinlerin aşırı etkilerine karşı çıkarlar. Anti-inflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımı immun yetmezliğe sebep olabilir.

Isı şok proteinleri, reaktif oksijen metabolitleri, eikozanoidler, yağ asit metabolitleri de diğer inflamasyon mediyatörleri arasında sayılabilir (2).

Sitokinler ve görevleri

TNF-a: hasarı izleyen dönemde en erken cevap veren sitokinlerdir. Şok ve katabolizma oluşumunu indukler.

İnterlökin 1: TNF-a ya benzer fizyolojik etkileri vardır. Anterior hipotalamusta prostaglandin yoluyla ateş oluşumunu sağlar, pituiter bezden endorfin salınımını destekler.

İnterlökin 2: lenfosit proliferasyonunu sağlar. İmmünglobulin üretimi, intestinal bariyer devamlılığını sağlar. Major kan kayıplarından sonra üretiminin duraklaması immun yetmezliğe sebep olur. Lenfosit apoptozisini düzenler.

İnterlökin 4: B lenfositlerden, alerjik ve antihelmintik cevaptan sorumlu olan IgG4 ve IgE üretimini destekler. TNF-a IL-1, IL-6, IL-8 seviyesini azaltır.

İnterlökin 5: Euzonofil proliferasyonunu ve hava yolu inflamasyonunu artırır.

İnterlökin 6: Bütün immunolojik hücrelerce temin edilir. Aktive olmuş nötrofil ömrünü uzatır.

İnterlökin 8: Nötrofil, bazofil, euzonofiller ve lenfositler için kemotaktiktir.

İnterlökin 10: Anti-inflamatuvar sitokindir. Hayvan sepsis ve ARDS modellerinde kullanımı mortaliteyi azaltmaktadır.

İnterlökin 12: Th₁ değişimine yardım eder, IL-2 ile sinerjistik çalışır.

İnterlökin 13: B lenfosit fonksiyonuna yardım eder, yapısal olarak IL-4'e benzemektedir. Nitrik oksit ve endotelyal aktivasyonu inhibe eder.

İnterlökin 15: Anti-inflamatuvar etkilidir. Lenfosit aktivasyonuna yardım eder, fungal enfeksiyonlarda nötrofil fagositozuna yardım eder.

İnterlökin 18: IL-2 fonksiyonuna benzer. Sepsiste miktarı artar, özellikle gram + enfeksiyonlarda artar, kardiyak ölümlerde yüksek seviyelerde bulunur.

İnterlökin 21: Th₂ hücrelerince salınır, yapısal olarak IL-2 ve IL-5'e benzer, NK hücreleri, B ve T lenfositleri aktive eder, adaptif immüniteyi etkiler.

IFN-gama: IL-12 ve IL-18 fonksiyonunu düzenler, ARDS oluşumuna yardım eder.

GM-CSF: yara iyileşmesini destekler ve lökosit aktivasyonu ile inflamasyonu destekler.

HMGB-1: yüksek mobiliteli grup kutu kromozomal proteinidir, DNA transkripsiyon faktörüdür, inflamasyonun geç mediyatörüdür, "hastalıklı davranış" tan sorumludur (2).

HASARA HÜCRESEL YANIT

Gen ekspresyonu ve düzenlenmesi: Vücutta her hücrede identik DNA zincirleri mevcuttur, fakat bu hücrelerin her birinin farklı yapısal ve fonksiyonel karakteristikleri vardır. Kök hücrede belli genlerin aktivasyonu ve deaktivasyonu ile hücrenin en son fonksiyonunun belirlendiği yüksek derecedeki başkalaşım (diferansiyasyon) işlemi oluşur. İnsanlarda çoğu genler DNA transkripsiyonu (örnek; intranükleer) aşamasında düzenlenir. Bu yüzden bir genin eksprese edilip edilmediği; daha çok o genin ilişkili mesajcı ribonükleik asitin (mRNA) üretimi ile belirlenir. Hangi genin aktive edileceği, transkripsiyon faktörleri (örnek, düzenleyici proteinler) ile hedef genin hemen yukarısında bulunan DNA parçacıklarının (promoter) birleşiminin bir düzen içerisinde işlemesiyle belli olur. Bir hücrenin bir hasar

uyarımına hangi şekilde ve hangi kuvvetle cevap vereceğinin belirlenebilmesi demek, bu transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu için gerekli olan arayolaların kontrol edilebilmesi demektir. Bu nedenledir ki inflamatuvar cevap sırasında transkripsiyon faktörleri önemli hale gelir (2).

Hücre sinyal oluşum arayolaları:

Isı şok proteinleri (HSP): Stres proteinleri olarak bilinir. Doku iskemisiyle ya da hasar ile karşılaşmış hücrelerde üretilir. Hücrelerin stresle baş edebilmesi için HSP'ler mutlaka gereklidir. HSP'lerin rolleri inflamatuvar cevabı azaltmaktır. Oksijen metabolitlerini azaltmak, Th₂ hücrelerinin proliferasyonunu sağlamak, NF- κ B aktivasyonunu inhibe etmek görevleri arasında sayılabilir (2).

G-protein reseptörleri: Vazoaktif polipeptidler, mitojenler, fosfolipidler, nörotransmitterler, prostaglandinler G-proteinleri arasında sayılabilir. Hücreler için en geniş sinyal reseptör ailesidir. Siklik adenosin monofosfat (cAMP) oluşumu ve endoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımı bu reseptörlerin aktivasyonu ile olur. Ayrıca protein kinaz C aktivasyonu yapar ve bu yolla NF- κ B ve diğer transkripsiyon faktörleri de aktive olur (2).

Ligand kapılı iyon kanalları: hızlı iyon akışı sağlayarak nörotransmitterleri sinyal oluşturmaya sebep olur. Nikotinik asetilkolin reseptörleri örnek olarak verilebilir (2).

Reseptör tirozin kinazlar: gen transkripsiyonu ve hücre proliferasyonu için önemlidir (2).

Janus kinaz/sinyal transduksiyonu ve transkripsiyon sinyal oluşturma işleminin aktivatörü (STAT): janus kinaz 20'den fazla sitokinin reseptörüdür. JAK bölgesine protein bağlandığında intrasellüler STAT proteinleri etkilenecek etki eder. İnflamasyon sırasında farklı T hücre cevaplarını aktive edebilir (Şekil 2) (2) .

Sitokin sinyal oluşunun sũpresũrleri (SOCS): Spesifik olarak JAK/STAT aktivasyonunu bloke ederler. Aktivitesindeki eksiklik hũcreyi inflamatuvar sitokinler ya da bũyũme hormonlarına karşı aşırı duyarlı hale getirir (2).

Mitojen-Aktive protein kinazlar (MAPK): Hũcre proliferasyonu ve hũcre ۆlũmũ ile ilişkili dũzenleyici rolleri bulunan majũr bir hũcreyel inflamatuvar sinyal oluşturucu arayolaktır. Apoptozisi de dũzenleyici rolü vardır (2).

Çekirdek faktũrũ-κB: Proinflamatuvar sitokinler ve akut faz proteinlerinin aktivasyonu için geniş bir spektrumuda bulunan genleri aktive eder. Sitolzde, NF-κB inhibitũr protein I-κB'e bağlanmış şekliyle bulunur. Bir hũcre infalamtuvar bir uyarıma maruz kaldığında I-κB'nin degradasyonu ile sonuçlanacak bir dizi fosforilasyon olayı olur (2).

Toll-like reseptũrler (TLR): Toll proteini ilk kez Gay ve Keith tarafından 1991'de sirke sineği olarak bilinen *Drosophilla Melanogaster*'de bulunmuş ve IL-1 RI ile homolog olduğu bildirilmiştir. Sirke sineğinde toll proteini, gelişimde ve enfeksiyona karşı konak savunmasında rol oynamaktadır. Memeli hũcrelerinde toll ile homolog olan ailenin bũyũk bir grubu IL-1R/toll benzeri reseptũr (TLR) sũper ailesi – inflamatuvar cevapta uyarılan endojen ligandlar kadar mikrobiyel bileşenlerin tanınmasında da gũrev alırlar. Transmembran proteinlerin bu bũyũk ailesinin bũtũn ũyelerinin sitoplazmik kısımları homolog iken, hũcre dışı domainleri iki ana alt gruba ayrılmaktadır. Birinci alt grupta, molekũlũn hũcre dışında kalan kısmı ũ immunglobulin benzeri domain içermektedir ve IL-1 RI'nın yapısı ile homologtur. On farklı TLR içeren diğer alt grupta hũcre dışı domainler lĩsınce zengin tekrarlayan bũlge içermektedir. TLR ailesinin bir ũyesi olan TLR-4, gram negatif bakterilerin hũcre duvarının proinflamatuvar bileşeni lipopolisakkarit (LPS; endotoksin) tarafından inflamatuvar hũcrelerin aktivasyonunu sağlaması açısından ۆnemli olduğu gũsterilmiřtir. LPS, lipid A olarak adlandırılan lipofilik kısma polisakkarit kuyruğun bağlanması ile oluşan kompleks glikolipid yapısıdır. Molekũlũn polisakkarit kısmı gram negatif bakterilerin farklı tũrleri ve suşları arasında yapısal olarak farklılık gũsterirken, lipid A kısmı (birkaç komşu şeker dizileri de dahil) gram negatif mikroorganizmaların farklı tũr ve suşları içinde oldukça korunmuş haldedirler. LPS ve serum proteini olan LPS-bağlayıcı protein (LBP) kompleksi

makrofaj ve monosit yüzeyinde bulunan CD-14'e bağlanarak onun aktivasyonunu başlatırlar. Glikofosfotidilinozitol-bağlı zar proteini olduğundan, CD-14 sitozolik domaine sahip değildir ve hücre içi sinyal iletimini direk olarak iletememektedir. Bundan yola çıkarak araştırmacılar CD14 ile bulunabilecek ve LPS'ye karşı hücrel cevabı başlatabilecek olası bir proteini araştırmışlardır. Sonunda LPS ko-reseptörü olduğu sanılan TLR4, konjenital olarak endotoksine az cevap verme özelliğinde olan inbred C3H/HeJ fare türünde çalışılarak tespit edilmiştir. Daha sonra TLR+ geni çıkarılmış fare türleri oluşturulmuş ve C3H/HeJ fareleri gibi LPS'ye karşı az cevap verdikleri gösterilmiştir, bu işlem endotoksin ile monosit ve makrofajların aktivasyonu için fonksiyonel TLR4 ifade edilmesinin gerekli olduğu kanıtlanmıştır. TLR+ mutasyonları aynı zamanda insanlarda da endotoksine az cevaplılık ile bağlantılıdır. Diğer bir protein MD-2, TLR-4'ün hücre dışı kısmıyla bağlantılıdır ve LPS'ye karşı cevap için gereklidir.

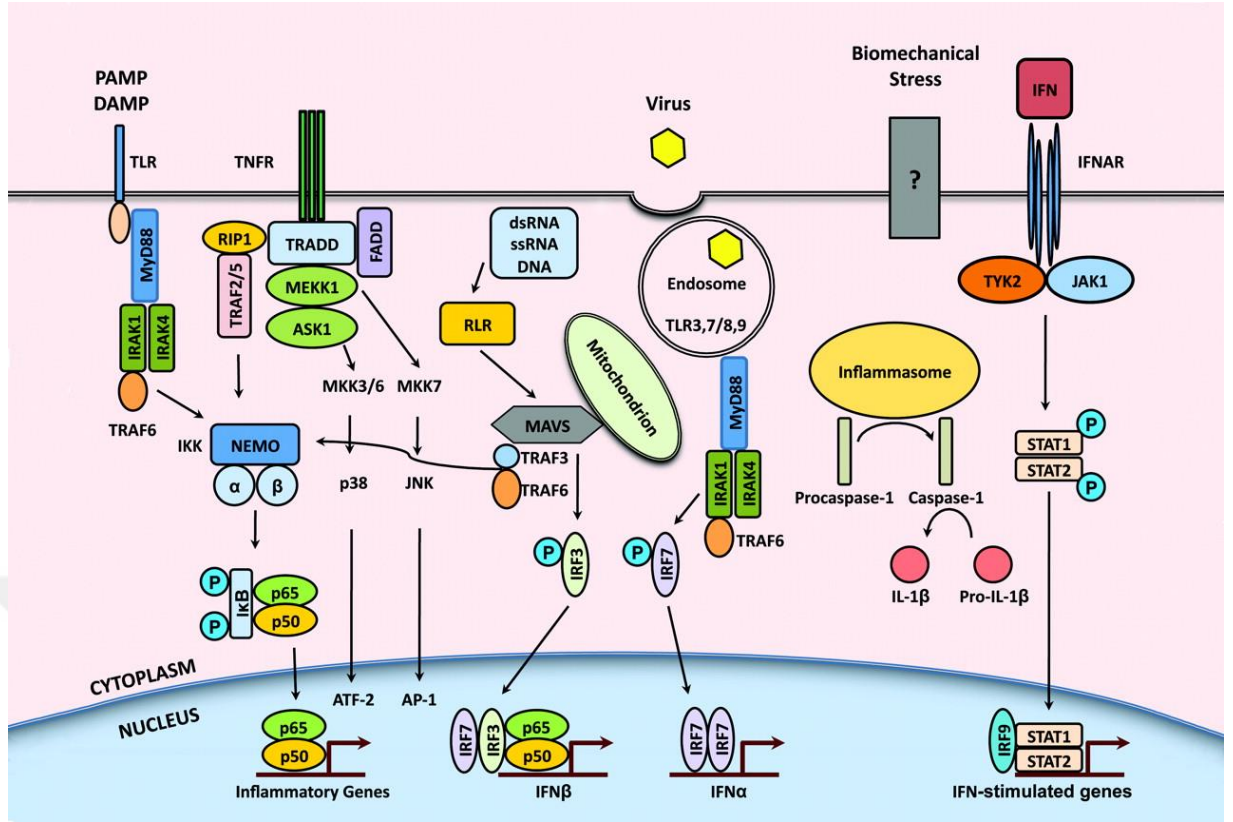
LPS'ye ek olarak çok çeşitli TLR'ler tarafından diğer mikrobiyel ürünler tanınmaktadır. Örneğin; TLR-2 birçok bakteriyel lipoproteinlerin yanında gram + bakterilerden derivate olmuş peptidoglikanı da tanımaktadır. TLR-5 bazı bakterilerin flajellasında bulunan 55-kD'luk protein olan flajellini tanımaktadır. TLR) memeli DNA'sından daha yaygın olarak bakteri DNA'sında bulunan metilenmiş CpG yapısını içeren oligonükleotidleri tanımaktadır.

Bütün bu TLR'lerin sitoplazmik kısımları IL-1 RI'nın sitoplazmik bölgeleri ile homolog olduğundan dolayı sinyal üretiminin ardışık mekanizmalarının ortak olması sürpriz değildir. Bütün şartlarda MyD88 adaptör proteini, reseptörü IL-1 reseptör ilişkili kinaz (IRAK) olarak adlandırılan diğer proteine bağlar. Ligandın TLR (veya IL-1 RI)'ya bağlanmasında, IRAK fosforillenir ve reseptör kompleksinden ayrılarak diğer bir sinyal proteini olan tümör nekrozis faktör reseptör-aktive edici faktör 6 (TRAF6) ile ilişkiye geçmesine neden olur. Bu işlem anahtar proinlamatuar transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kapa (NF-kB)'nin aktivasyonu ve bunun yanında mitojen aktive protein kinazlar (MAPK's)'inde rol aldığı fosforilasyon sinyal yolunun aktivasyonu ile sonuçlanır (Şekil 3). IL-1B'nın IL-1 RI'e bağlanması ile sinyal yolunun aktive olması esnasındaki ligand-reseptör ilişkisi, IL-1 reseptör aksesuar protein (IL-1 RacP) olarak adlandırılan diğer transsitoplazmik protein olmadan sinyal uyarımını başlatamaz. İlginçtir ki IL-18

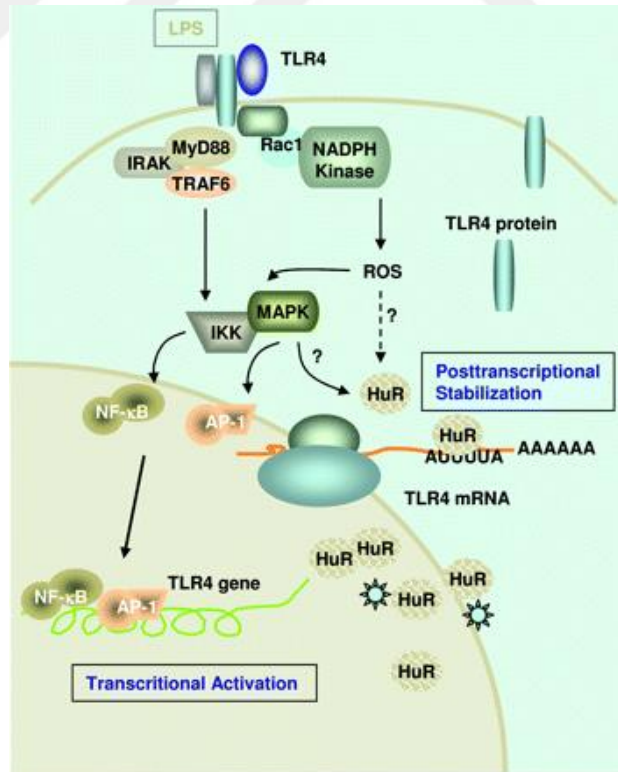
(yapısal olarak IL-1 ile ilişkilidir)'in IL-18R (diğer bir IL-1R-TLR aile üyesidir) ile bağlantısı benzer aksesuar protein olan IL-18RacP (veya AcPL) olmadan ardışık sinyal uyarımını tetikleyemez (Şekil 4).

TLR'ler enfeksiyon bulunmasa dahi sekonder doku hasarına karşı oluşan doğal immun cevabın aktivasyonunda da rol alabilmektedir. İmmun hücre aktivasyonu için bu yolu tetikleyen 2 benzer aday bulunmaktadır: ısı şok proteini 60 (HSP 60) ve ısı şok proteini 70 (HSP 70). Bu protein ailesinin diğer üyeleri gibi, HSP60 ve HSP70 normal olarak yeni oluşturulmuş polipeptidlerin uygun şekilde katlanmalarını sağlamak için “şaperonlar” gibi önemli rol oynarlar. Ama hücreler nekroza uğradığında bu hücre içi proteinleri hücre dışı boşluğuna salınırlar ve makrofaj üzerindeki TLR'lere bağlanarak inflamatuvar cevabı uyarırlar. Bu ve buna benzer mekanizmalar “yabancı” antijen olmadığında bile immun sistemin tehlikeye (örn:doku hasarı) karşı nasıl cevap verdiğini anlamamıza yardımcı olabilmektedir (1).

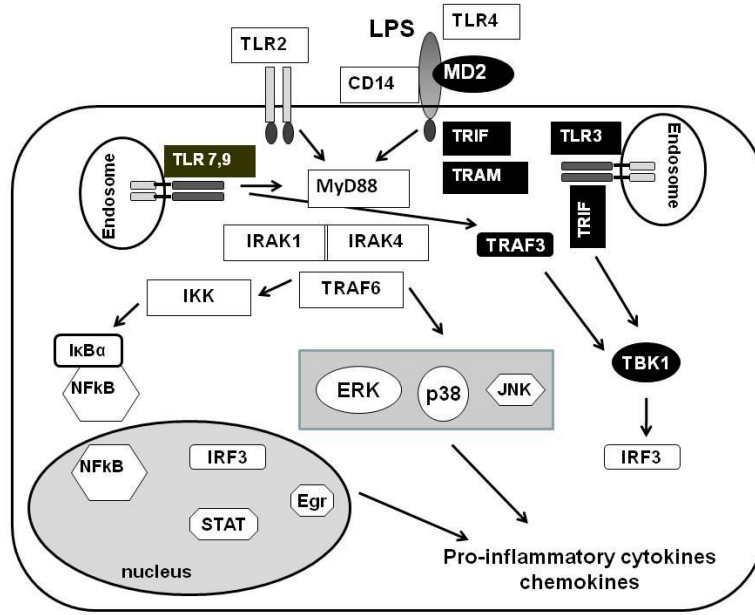
İnsanlarda tanımlanmış 10 adet TLR, farelerde tanımlanmış 12 adet TLR bulunmaktadır (Tablo 5). NF- κ B'nin aktivasyonuna kadar giden süreçte MyD88, TRAF-6, IRAK yolaklarını kullanarak PAMP ve DAMP üzerinden PRR'yi etkileyerek etki eden TLR ailesinden; TLR-3 ve TLR-4'ün MyD88 harici yollardan inflamasyon kaskadını aktive ettiğini gösteren çalışmalarda yapılmıştır (11).



Şekil-2 – İnflamasyon Kaskadı JAK/STAT, IRAK, TRAF



Şekil 3 – İnflamasyonda NF-κB ve MAPK's İlişkili Yolak



Şekil 4 –TLR İlişkili Enflamasyon Kaskadı

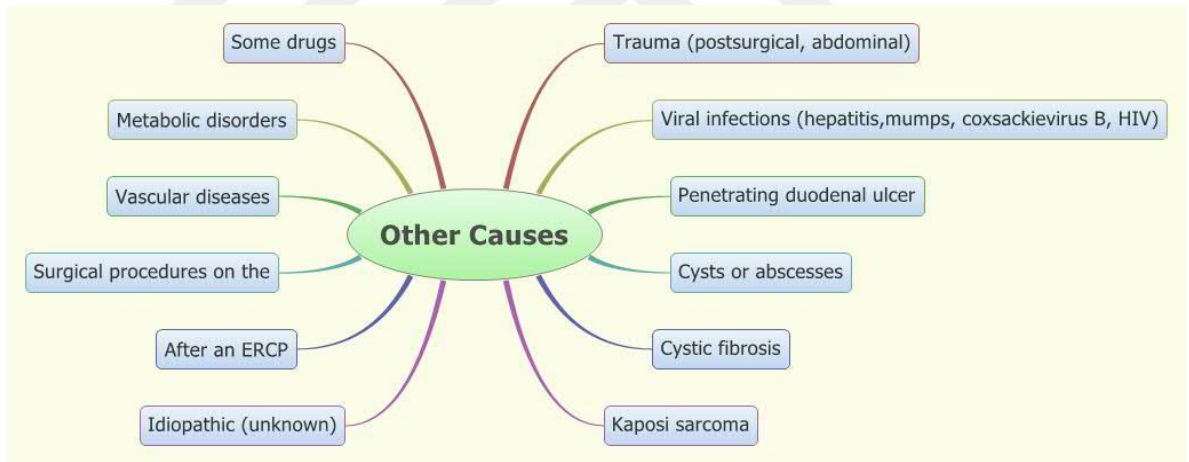
AKUT PANKREATİT

Pankreatit klinik karakteristiklerine, fizyolojik değişikliklerine ve anamneze dayanarak akut veya kronik olarak ayrılabilir. Akut pankreatit genellikle öncesinde sağlıklı olan kişide semptomların akut olarak ortaya çıkması ve atak geçtikten sonra semptomları kaybolması ile karakterizedir. Aksine, kronik pankreatitli hastalarda tekrarlayan tekrarlayan atak hikayeleri vardır ve devam eden atak öncesinde endokrin veya ekzokrin yetersizlik bulguları vardır. Klinik olarak hem akut hem de kronik ataklar ani ve şiddetli başlamaları, kısa sürmeleri ile karakterize olup birbirine benzerdir. Bu nedenle zaman geçmeden veya doku örneklerini incelemeyen ilk atağın ataklardan birimi yoksa kronik pankreatit mi olduğunu ayırt etmek imkânsızdır.

Patoloji: Akut pankreatit'in patolojik değişiklikleri parankimal ve peripankreatik yağ nekrozu ve beraberinde inflamatuvar yağ nekrozunu içerir. Bu değişikliklerin büyüklüğü atağın şiddeti ile direkt olarak ilişkilidir. Orta şiddetteki pankreatitlerde nekroz rölatif olarak sınırlı olup, değişiklikler sıklıkla intersisyonel ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu içerir. Şiddetli pankreatitlerde ise yaygın nekroz, intrapankreatik kanama görülebilir. Enfeksiyon varlığında nekroz alanları içeren intrapankreatik ve peripankreatik abse alanları ortaya çıkabilir. Kronik

pankreatitlerde görülen major değişiklik fibrozis ile hem endokrin hem de ekzokrin yapıların kaybıdır. Buna ek ve perinöral inflamasyon da tariflenmiştir.

Etiyoloji: Gelişmiş ülkelerde %70-80’inde neden biliyer kanalda taş varlığı veya etanol bağımlılığıdır. Sıklıkla akut pankreatit biliyer kanal taş hastalığı ile ilişkili iken, kronik pankreatit yüksek miktarlarda etanol kullanımı ile ilişkilidir. %10-15’inde etiyoloji belirsizdir ve idiyopatik olarak adlandırılır. Kalan %10-15’lik hastada pankreatit muhtemel pek çok nedene bağlı olarak gelişir. Gelişmemiş ülkelerde (özellikle Güneydoğu Asya ve Afrika’da) pankreatit sıklıkla tropikal ve nutrisyonel pankreatit olarak adlandırılırlar. Son çalışmalar tropikal pankreatit olarak adlandırılan pek çok hastada pankreatik sekretuvar tripsin inhibitörünü kodlayan gendeki mutasyonun neden olduğu bir tür hereditör pankreatit olduğunu göstermiştir. Etkilenmiş hastalar sıklıkla ağrılı ataklardan şikayet ederler ve diyabetin yanı sıra hastalarda pankreatik kalsifikasyonlarda görülür (Şekil 5).



Şekil 5 – Akut Pankreatit Etiyolojisi

Akut pankreatit etiyolojisi: safra kanalı taşları, ilaçlar, ERCP, alkol, hiperkalsemi, hiperlipidemi, idiyopatik, enfeksiyonlar, iskemi, parazitler, cerrahi sonrası, akrep sokması, travma sebep olabilir.

Pankreatit nedeni olan ilaçlar:

Kesin nedenler: 5-aminosalisilat, 6-merkaptopurin, azathiopurin, sitozin arabinosid, dideoksinozin, diüretikler, östropjenler, furosemit, metronidazol, pentamidin, tetrasiklin, tiazid, trimetoprim-sufometaksazol, valproik asit.

Olası nedenler: asetaminofen, a-metildopa, izoniazid, L-asparaginaz, fenformin, prokainamid, sulindak.

Akut pankreatit'in patofizyolojisi: Genel olarak akut pankreatitin pankreatik kanal tıkanması ve bunun pankreatik asiner hücreler içinde hasar başlatması ile tetiklendiğine inanılmaktadır. Bu hasarın tripsinojeni de kapsayan intra-asiner hücrede sindirim enzim zimojenlerinin aktivasyonunu kapsadığı hatta sonucu olduğuna inanılmaktadır. Bu hipotezi destekleyen çalışmalarda görülen erken değişiklik tripsinojen gibi sindirim enzim zimojenlerinin katepsin B gibi lizozomal hidrolazlarla sitoplazmik vakuoller içinde yerleştirilmesinin en erken değişiklik olduğunu göstermektedir. Bu kolokalizasyon teorisine göre, sindirim enzimlerinin katepsin B-ilişkili intra-asiner aktivasyonu, asiner hücre hasarına sebep olur ve intrapancreatik inflamatuvar hasarı tetikler. Bu inflamatuvar cevabın şiddetinin pankreatit şiddetini regüle ettiği ve pankreatitin akciğer ve böbrek hasarı gibi ekstrapankreatik olaylarla birlikteliğine neden olduğu düşünülmektedir.

Akut pankreatit'in bulguları: Abdominal ağrı, bulantı kusma pankreatitin baskın semptomlarıdır. Tipik olarak ağrı epigastriumda lokalizedir. Üst kadranda, alt kadranda ve göğse yayılabilir. Plevratik komponenti olabilir ve omuzlarda hissedilebilir. Hastaların çoğu ağrıyı bıçak saplanması gibi orta-santral sırt boyunca yayılan şekilde tariflemektedir. Genellikle ani başlangıçlıdır ve yavaşça artarak maksimum seviyeye ulaşır.

Fiziksel bulgular: hipertermi sıktır ve bunun nedeni hasarlanmış pankreastan kemokinleri ve sitokinleri içeren proinflamatuvar faktörlerin salınımı ile açıklanabilir. Hastalarda hipovolemi, kollabe olmuş boyun venleri, kuru cilt, kuru müköz membranlar ve azalmış ciltaltı elastikiyeti vardır. Plevratik ve abdominal ağrı solunumu güçleştirdiği için akciğerde solunum sesleri azalmıştır ve atelektazi görülebilir. Plevral efüzyon sıklıkla solda olmakla birlikte her iki tarafta da

görülebılır. Şiddetli pankreatitli hastalarda sıklıkla akut akciğer hasarı gelişir ki ARDS olarak tanımlanır. Safra kesesi taşının indüklediği akut pankreatitlerde inflame pankreasın neden olduğu tıkanıklık veya şiddetli hastalığın kendisi tarafından induklenmiş kolestaz ile birlikte distal safra kanalı obstruksiyonuna bağlı sarılık tablosu da görülebılır. Akut pankreatit nedeniyle ileus görülebılır ve genellikle barsak sesleri azalmıştır. Batın distandü ve timpaniktir. Nadir durumlarda, flank ekimoz(grey turner sendromu) veya periumblikal ekimoz (cullen belirtisi) şiddetli pankreatitlerde görülebılır.

Teşhis: Amilaz yüksekliği, hipokalsemi, hipoalbuminemi, artmış hemoglobin, hemotokrit, kan üre nitrojeni, kreatinin, hiperbilirubinemi, kan şekeri artışı, lipaz artışı görülebılır. Bunun dışında şnflamatuvar mediyatörler ve akut faz reaktanları (IL-1, IL-6, TNF-a, CRP) seviyeleri pankreatit sırasında yükselir ve bu yükseklik seviyesi atağın şiddetini tahminde kullanılabilir.

Görüntülemeye bilgisayarlı tomografi (BT) teşhis ve tedavisinde faydalı olabilir. MRI, BT kadar spesifik ve sensitif olup tanıda kullanılabilir. Batın BT’de akut pankreatit şiddetini belirlemek üzere balthazar sınıflaması yapılmaktadır (Tablo 1).

Grade A	Normal pancreas
Grade B	Focal or diffuse enlargement of the pancreas
Grade C	Pancreatic changes associated with peripancreatic inflammation
Grade D	Single fluid collection
Grade E	Two or more fluid collections and/or presence of gas within the pancreas or within peripancreatic inflammation

Tablo 1: BT’de Balthazar Sınıflaması ve Pankreatit Şiddeti

Extent of necrosis	Points
Absence of necrosis	0
< 30% necrosis	2
30%-50% necrosis	4
> 50% necrosis	6
Balthazar score	
A	0
B	1
C	2
D	3
E	4

Maximum score 10 points.

Akut atağın prognozu: Akut atağın şiddeti ilk 24-48 saat içinde gelişen olaylarla belirlenir. Hastaların genelinde orta dereceli sınırlı pankreatit görülürken, %10’unda şiddetli pankreatit izlenir. Şiddetli atak, 60 yaş üzerinde, ilk atak geçirenlerde, postoperatif pankreatitlerde, methemalbuminemide, hipokalsemide, grey turner ve cullen belirtisi olanlarda görülür. Prognostik şemalar da geliştirilmiştir. En çok kullanılan klinik skrolama sistemi Ranson’un prognostik kriterleridir . Üç’ten daha az kritere sahip hastaların düşük morbidite ile orta şiddette bir atak geçirmesi beklenir ve mortalite %1’den azdır. Ranson kriterlerinden 3-4’üne sahip hastalarda mortalite oranı %15-50’ye ulaşmaktadır, yoğun bakım ihtiyacı olabilir. Beş ya da altı kritere sahip hastalar yoğun bakım ihtiyacı duyarlar, 7-8 kritere sahip hastalarda mortalite oranı %90’lardadır (Tablo 2). APACHE-2 (Tablo 3). ve Atlanta kriterleri (Tablo 4). de prognoz belirlemek için kullanılan diğer skalalardır.

Tablo 2: Ranson Kriterleri

Table 33-4 Ranson's Prognostic Signs of Pancreatitis	
Criteria for acute pancreatitis not due to gallstones	
At admission	During the initial 48 h
Age >55 y	Hematocrit fall >10 points
WBC >16,000/mm ³	BUN elevation >5 mg/dL
Blood glucose >200 mg/dL	Serum calcium <8 mg/dL
Serum LDH >350 IU/L	Arterial Po ₂ <60 mm Hg
Serum AST >250 U/dL	Base deficit >4 mEq/L
	Estimated fluid sequestration >6 L
Criteria for acute gallstone pancreatitis	
At admission	During the initial 48 h
Age >70 y	Hematocrit fall >10 points
WBC >18,000/mm ³	BUN elevation >2 mg/dL
Blood glucose >220 mg/dL	Serum calcium <8 mg/dL
Serum LDH >400 IU/L	Base deficit >5 mEq/L
Serum AST >250 U/dL	Estimated fluid sequestration >4 L

AST = aspartate transaminase; BUN = blood urea nitrogen; LDH = lactate dehydrogenase; Po₂ = partial pressure of oxygen; WBC = white blood cell count.

Tablo 3: APACHE-2 Skorlaması

Table 2

APACHE II Score⁹

APACHE II score = (acute physiology score) + (age points) + (chronic health points)

Physiologic Variable	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Rectal temperature (C)	≥ 41	39-40.9		38-38.9	36-38.4	34-35.9	32-33.9	30-31.9	≤ 29.9
Mean arterial pressure (mm Hg)	≥ 160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤ 49
Heart rate (bpm)	≥ 180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤ 39
Respiratory rate (bpm)	≥ 50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤ 5
Oxygen delivery (mL/min) OR PaO ₂ (mm Hg)	≥ 500	350-499	200-349		< 200 > 70	61-70		55-60	< 55
Arterial pH	≥ 7.7	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7.25-7.32	7.15-7.24	< 7.15
Serum sodium (mmol/L)	≥ 180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤ 110
Serum potassium (mmol/L)	≥ 7	6-6.9		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9		< 2.5
Serum creatinine (mg/dL)	≥ 3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		< 0.6		
Hematocrit (%)	≥ 60		50-59.9	46-49.9	30-45.9		20-29.9		< 20
White cell count (10 ³ /mL)	≥ 40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		< 1

Age Points

Age	Points
≤ 44	0
45-54	2
55-64	3
65-74	5
≥ 75	6

Chronic Health Points

History of Severe Organ Insufficiency	Points
Nonoperative patients	5
Emergency postoperative patients	5
Elective postoperative patients	2

Tablo 4: İnsanda Toll Like Reseptörlerin Bulunduğu Bölgeler ve Etki Alanı ve Revize Atlanta Kriterleri

Table 1 - Severity categories following the Revision of Atlanta Classification³.

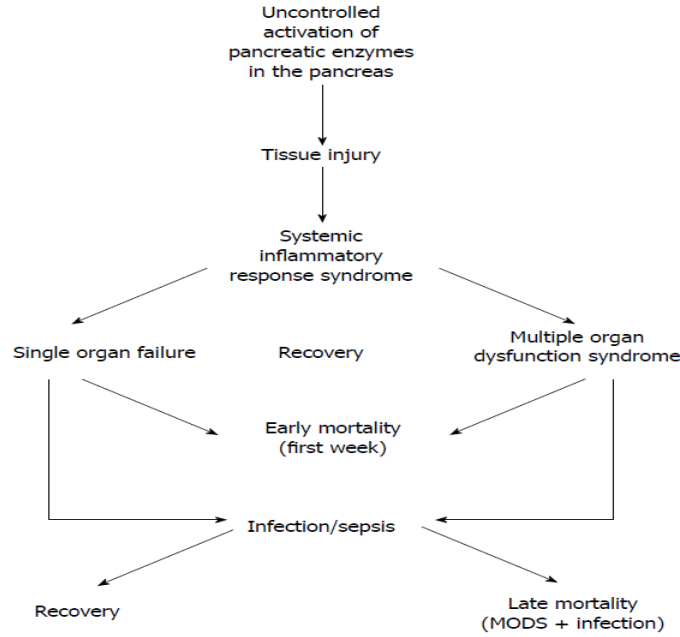
Acute pancreatitis severity	Organ failure and local or systemic complications
Mild acute pancreatitis	- No organ failure - No local or systemic complications
Moderately severe acute pancreatitis	- Transient organ failure (resolves in 48 hours)
	Local or systemic complications without persistent organ failure
Severe acute pancreatitis	- Persistent organ failure (single or multiple)

	Proteins, peptides	Fatty acids, lipoproteins	Proteoglycans, glycosaminoglycans
TLR1	β -defensin-3		
TLR2	Antiphospholipid antibodies β -defensin-3 Eosinophil-derived neurotoxin Heat-shock protein 60, 70, Gp96 High-mobility group protein B1 (HMGB1) HMGB1-nucleosome complexes Surfactant protein A, D	Serum amyloid A	Biglycan Hyaluronic acid fragments Versiglycan
TLR4	Antiphospholipid antibodies β -defensin-2 Fibrinogen Fibronectin (extra domain-A) High-mobility group protein B1 Heat-shock protein 60, 70, 72, 22, Gp96 Lactoferrin MRP8, MRP14 Neutrophil elastase Surfactant protein A, D Tenascin-C (fibrinogen-like globe)	Oxidised low-density protein Saturated fatty acids Serum amyloid A	Biglycan Heparan sulphate fragment Hyaluronic acid fragment

AKUT PANKREATİT VE TOLL LİKE RESEPTÖR (TLR) İLİŞKİSİ

Akut pankreatit yaklaşık bir milyonda 300 kişiyi etkileyen insidansa sahip önemli bir hastalıktır. Bu hastalarda %10 – 15 oranında şiddetli pankreatit geçirmekte, SIRS ve MODS tablosuna sebep olmakta, %10 – 30 kadarında komplikasyonlar nedeniyle ölüm ile sonuçlanan hastalık izlenmektedir. Safra taşları ve alkolün yapılan araştırmalarda akut pankreatit etiyolojisinde yüksek oranda görüldüğü izlenmektedir. Akut pankreatit nedenli komplikasyonlar lokal ya da ekstrapankreatik alanlarda gözlenebilir. Pankreatik hasar; pankreatik nekroz, akut sıvı koleksiyonu ve psödokist ile sonuçlanabilir. Şiddetli akut pankreatitin erken döneminde SIRS ve %40 oranında ölümle sonuçlanan MODS izlenebilir (Şekil 6). Akut pankreatit'in tanı ve tedavisindeki gelişmelerine rağmen mortalite oranında son dekatlara kadar önemli bir düşüş görülmemektedir. Bu giderek artan akut pankreatitli hasta oranı ile ilgili olabilir. Bunun için akut pankreatitin patofizyolojisini anlamakla birlikte yeni tedavi stratejileri geliştirmek için çalışmalar yapılmaktadır (3).

Toll like reseptörler'in (TLR) kendisini tedavide moleküler potansiyele sahip hedef haline getiren, çok sayıda hastalığın gelişiminde rol oynadığına dair çalışmalar mevcuttur. SIRS'in akut pankreatit sonucu gelişebilecek bir durum olması ve SIRS patogenezinde TLR etkisi ile ilgili çalışmalar göz önüne alındığında akut pankreatit patogenezinde de TLR rolü olasılığı araştırmaya değer bulunmuştur. Bu çalışmada TLR2 ve TLR4'ün akut pankreatit ile olabilecek ilişkisi incelenmeye çalışılmıştır (3).



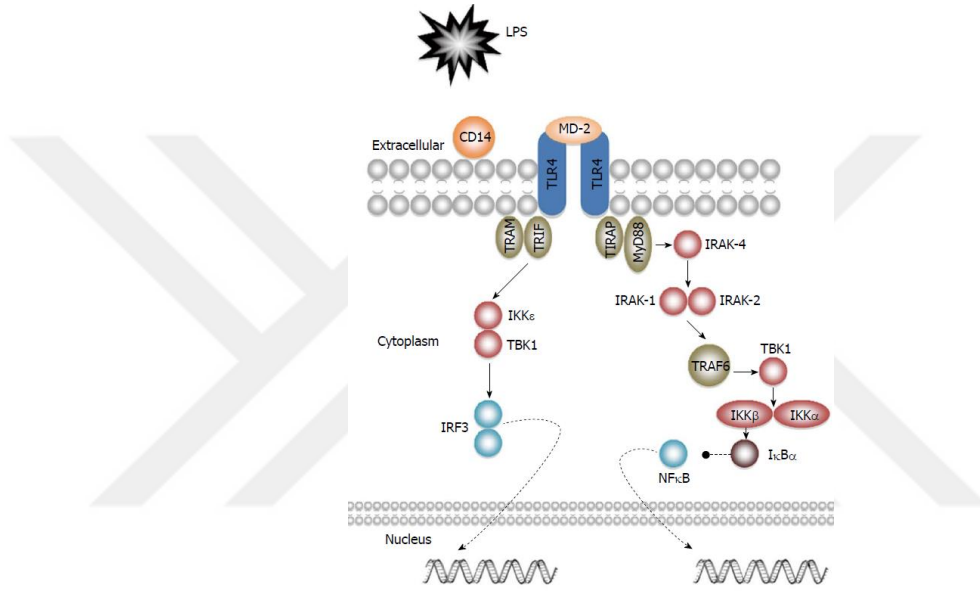
Şekil 6 – Akut Pankreatit Nedenli SIRS ve MODS Gelişimi

Toll Like Reseptör - 4 (TLR-4)

TLR-4 makrofaj ve dentritik hücreler gibi immün hücrelerde ilk tanımlanan ve geniş bir ekspresyon ve etki alanı olan reseptördür (1). TLR-4; lipopolisakkaridler, fibrinojen ve birçok ısı-şok proteinini içeren DAMP'leri tanımlar. Aktivasyon sırasında TLR-4 formları TLR-6 ile birlikte homodimerler ve heterodimerler oluşturarak etkisini gösterir. Birçok TLR, DMAP'yi etkilemek için birkaç aksesör diyebileceğimiz moleküle ihtiyaç duyar. TLR-2, CD14'e bağlanmak için TLR-4'e bağlanabileceği lipopolisakkaritlere ihtiyaç duyar. Myeloid diferansiasyon proteini-2 (MDP-2) lipopolisakkaritlere bağlanmak için gerekli proteinlere örnek gösterilebilir (13).

TLR-4 diğer TLR'ler gibi (özellikle TLR-3) NF-kB'yi aktive etmek için genellikle MyD88 yolağını kullanır. Bunun yanında TRIF iletim yolağını da kullandığını gösteren çalışmalarda yapılmıştır. Bu yolda öncelikle TRIF ve TRAM'ın TIR-TIR dimerleri ile aktivasyonu sağlanır. Sonrasında TRIF 1-k-beta kinaz epsilon'u (IKKε) aktifler ve TANK bağlayıcı kinaz (TBK1) ile bağlanır. Sonrasında IKKε-TBK1, IRF-3'ü fosforiller ve aktifler. Bu yolak IFN-a ve IFN-b'nin transkripsiyonu ile sonuçlanır (Şekil 7). TLR-4 geçtiğimiz yıllarda gram

negatif bakterilerle olan etkileşimi ve birçok hastalıkta aktif rol oynaması açısından oldukça araştırılmıştır. Özellikle, ateroskleroz, obezite, kalp ve böbrek hastalıkları, karaciğer hastalıklarındaki rolü ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (14,15). Bakteriler akut pankreatitte önemlidir. Nekrotizan/hemorajik pankreatitte intestinal bakterilerin pankerasa ya da diğer organlara dağılımı sonucunda SİRS ya da MODS gelişebilir. TLR-4 inflamasyonda ve doku hasarında salınan uyarıcılar ve lipopolisakkaridlerle olan ilişkisi açısından akut pankreatitte önemli bir rol oynayabilir (16,17).



Şekil –7 TLR-4’ün TRIF ve TRAM üzerinden inflamasyonu aktive ettiği yolak

3. MATERYAL VE METOD

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi acil polikliniğine son 4 yıl içerisinde herhangi bir nedenle başvuran hastalar içerisinde genel cerrahi ve gastroenteroloji kliniklerimize akut biliyer pankreatit öntanısı ile interne edilen hastalar incelendi. Çalışmaya dahil edilecek ABP hastaları belirlenerek; laboratuvar parametreleri açısından incelendi. ABP hastaları 105 kişilik sağlıklı, safra taşı ve pankreatit öyküsü olmayan kontrol grubu ile polimorfizm açısından karşılaştırıldı.

Akut biliyer pankreatit hastaları, 2010 Mayıs – 2014 Mayıs tarihleri arasında acil polikliniğimize başvuran tüm hastalar içerisinde akut biliyer pankreatit tanısı ile genel cerrahi servisimize yatırılan 798 hasta içerisinde belirlendi. Kliniğimizde henüz yatmakta olan 18 hastadan takip dönemi içerisinde kan numuneleri alındı. 798 hasta içerisinde çalışmamıza katılacaklar belirlenmek üzere hasta kayıtları incelendi. Kayıtları incelenen hastalar içerisinde çalışmamızda balthazar skorunu polimorfizm ve pankreatit şiddeti ile ilişkisi değerlendirilmek üzere tüm abdomen BT çekilen hastalar kriter olarak belirlendi. Telefon kaydı bulunmayan, ulaşılamayan ve çağırılmasına rağmen katılım göstermeyenler dışında kalan 97 hastadan kan örnekleri aydınlatılmış onam formu imzalatılmak suretiyle alındı. Bu özelliklere sahip toplam 115 akut biliyer pankreatit tanılı hasta çalışmamıza dahil edilmiş oldu. Sağlıklı kontrol grubunu oluşturan kişilerden yine aydınlatılmış onam formu ile kan örnekleri alındı.

TLR4 rs4986791 (Thr399Ile) gen polimorfizmi çalışılmak üzere alınan 115 kan numunesinden 20'si yetersiz numune ve hemoliz nedeniyle sonuçsuz kaldı ve 95 hasta üzerinden çalışma yürütüldü. Sağlıklı kontrol grubundan 4 kişinin kan örneklerinin aynı nedenlerle çalışılmaması nedeniyle 101 kişilik kontrol grubu ile karşılaştırıldı. CC homozigot allelleri görülmesi polimorfizmi, CT heterozigot allelleri görülmesi ise polimorfizm olmadığını göstermekteydi. IL-8 rs4073 (-251T/A) numaralı genetik polimorfizmi araştırılan yine 115 hastanın 24'ünde alınan kan örneklerinden hemoliz nedeniyle ve 1 hasta numune yetersizliği nedeniyle çalışılmadı. Çalışma; 90 hasta, sonuç alınamayan 5 hastanın haricindeki 100 kişilik sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılarak yürütüldü. AA ve TT allelleri homozigot varyant olmakta birlikte polimorfizm olduğunu göstermekte, AT ise heterozigot allel olarak polimorfizm olmadığını göstermekteydi.

Çalışmamız prospektif randomize vaka kontrol çalışması olarak yürütüldü.

ABPG'deki tüm hastalar yaş ve cinsiyet gibi bağımsız faktörler açısından değerlendirildi.

Karın ağrısı yakınması ile acil servisimize başvuran hastalar içerisinde yapılan kan ve görüntüleme tetkikleri neticesinde akut pankreatit tanısı düşünüldü. Akut biliyer pankreatit hastalarına yatış anında yapılan laboratuvar biyokimya ve hemogram incelemelerinde amilaz, lipaz, ALT, AST, WBC, CRP, total ve direk bilirubin seviyeleri değerlendirildi. Amilaz ve lipaz değerleri normalin 3 katı ve daha fazlası olan hastalar akut biliyer pankreatit açısından anlamlı olarak düşünüldü.

Görüntüleme metodu olarak tüm hastalara tüm abdomen ultrasonografi (US) uygulandı ve gerek duyulan hastaların tanıları tüm abdomen bilgisayarlı tomografi (BT) ile desteklendi. US'de safra kesesinde milimetrik taşlar ya da safra yollarında taş/çamur bulgusu olan ve MRCP'de koledok taşı olan hastalar akut biliyer pankreatit gelişimi açısından anlamlı düşünülerek tanı kriterlerinden biri olarak belirlendi. Aynı zamanda US'de pankreas bulguları (heterojenite, peripankreatik sıvı gibi) tanıda değerlendirildi.

Amilaz ve lipaz değerleri 3 katı değerinin altında olan ancak görüntüleme bulgularında pankreatit lehine bulguların görüldüğü hastalar da ABP öntanısı ile çalışmaya dahil edildi.

BT bulguları balthazar sınıflamasına göre incelenerek hastalığın şiddeti ile korelasyonu açısından çalışmaya değer katabileceği düşünülerek değerlendirildi.

Ayrıca ABP hastalar hastalığı geçirdiği dönem içerisindeki bulgular değerlendirilerek kendi içerisinde hafif ve şiddetli pankreatit açısından incelendi.

Hastaların hastanede yatış süreleri ve yoğun bakım ihtiyacı olup olmadığı, SİRS kliniği gelişip gelişmediği incelenerek morbidite ve mortalite oranları değerlendirilmeye çalışıldı.

Revize Atlanta kriterleri belirlenmek üzere akut biliyer pankreatitli hastaların hafif, orta şiddette, şiddetli pankreatit ayrımları yapılarak genetik polimorfizm açısından değerlendirmeleri yapıldı.

ABP olarak değerlendirilen hastalar yatış esnasında ve taburculuk sonrası olarak gruplanarak genetik polimorfizm açısından hastalık sürecinde ve iyileşme sonrası dönemde farklılık olup olmadığı incelendi.

TLR4 ve IL-8 Genetik Polimorfizminin İncelenmesi

Hasta ve kontrol gruplarından alınan periferik kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınarak -20 derecede saklandı ve daha sonra bu örneklerden Bio Basic BS684-250 (Ontario Canada) kodlu ticari kit aracılığıyla, üreticinin yönlendirdiği protokole göre, DNA izolasyonları gerçekleştirildi. rs4986791 (Thr399Ile) polimorfizmi için F: 5'-GGT TGC TGT TCT CAA AGT GAT TTT GGG AGA A-3' ve R: 5'-ACC TGA AGA CTG GAG AGT GAG TTA AAT GCT-3' (Determination of the TLR4 Genotype Using Allele-Specific PCR *BioTechniques* 31:___-___ (July 2001) primerleri ile PCR işlemi gerçekleştirildi ve elde edilen PCR ürünleri *Hinf I* (Thermo Scientific) restriksiyon enzimi ile kesilerek elde edilen ürünler %3'lük agaroz jelde yürütüldü. Oluşan bant kompozisyonları fotoğraflandı ve analizleri gerçekleştirildi.

rs4073 (-251T/A) numaralı polimorfizmi için F: 5'-CAT GAT AGC ATC TGT AAT TAA CTG ve R: 5'-CTC ATC TTT TCA TTA TGT CAG AG (a r c h i v e s o f o r a l b i o l o g y 5 8 (2 0 1 3) 2 1 1 – 2 1 7) primerler kullanılarak PCR ile DNA parçacıkları çoğaltıldı. Çoğaltılan PCR parçacıkları *Mfe I* (Thermo Scientific) enzimi ile kesilerek %2'lik agaroz jelde yürütüldü ve görüntülenerek analiz işlemleri gerçekleştirildi.

İstatistiksel İncelemeler

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS (Power Analysis and Sample Size) 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, medyan, sıklık, oran) yanısıra normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Student t test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi ve Fisher-Freeman-Halton test kullanıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Son 4 yıl içerisinde hastanemiz acil polikliğine 828.427 hastanın herhangi bir yakınma nedeniyle başvurduğu izlendi. Bu hastalar içerisinde akut pankreatit tanısı ile 1215 hasta genel cerrahi ve gastroenteroloji kliniklerimize interne edildi. Akut biliyer pankreatit nedeniyle servisimize yatırılan hasta sayısı 798, akut nonbiliyer pankreatit nedeniyle gastroenteroloji ve genel cerrahi servisimize yatırılan hasta sayısı 417 idi.

Olguların yaşları 22 ile 92 arasında değişmekte olup akut biliyer pankreatit hastalarının yaş ortalaması $58,74 \pm 15,57$ idi. Kadın cinsiyet %66,1 oranında daha yüksek olarak izlendi. Erkek cinsiyet oranı %33,9 idi (Tablo 5).

Tablo 5: Gruplara Göre Demografik Özelliklerin Değerlendirilmesi

Akut biliyer pankreatit (n=115)		
Ort $\pm$ SD (Medyan)		
Yaş		
58,74 $\pm$ 15,57		
n (%)		
Cinsiyet	Kadın	76 (%66,1)
	Erkek	39 (%33,9)

Akut biliyer pankreatit tanısı ile kan alınan hastalardan 18'inde yatışı esnasında kan alındı. 97 hastadan taburculuk sonrası tekrar çağırılarak kan alındı. Yatışı esnasında kan alınan hasta oranı %15,7 idi.

Laboratuvar değerleri incelendiğinde % 80,9 hastamızda amilaz, %72,2 hastamızda lipaz değerleri yüksek olarak bulundu. WBC yüksekliği görülen hasta oranı %47, CRP yüksekliği oranı %66,1 idi.

Tablo 6: Gruplara Göre Biyokimya Parametrelerinin Değerlendirilmesi

	Akut biliyer pankreatit (n=115)	
	Normal; n (%)	Yüksek; n (%)
AMİLAZ	22 (%19,1)	93 (%80,9)
LİPAZ	32 (%27,3)	83 (%72,2)
AST	59 (%51,3)	56 (%48,7)
ALT	66 (%57,4)	49 (%42,6)
Total bilirubin	85 (%73,9)	30 (%26,1)
Direk bilirubin	57 (%49,6)	58 (%50,4)
WBC	61 (%53,0)	54 (%47,0)
CRP	39 (%33,9)	76 (%66,1)

Balthazar skoru hasta sayıları üzerinden değerlendirildiğinde en fazla hasta oranı (%87,8) nekrozun görülmediği aralıktaydı (Tablo 6).

Tablo 7: Balthazar Skoru'na Göre Hasta Dağılımı

Balthazar skoru	Akut biliyer pankreatit (n=115)
	n (%)
0	101 (87,8)
1-2	1 (0,9)
3	0
4	5 (4,3)
5	7 (6,1)
6	0
>6	1 (0,9)

Akut biliyer pankreatit hastalarımızda atak sonrası 5 hastaya ERCP (%4,3), 11 hastaya kolesistektomi uygulandı (%9,6). Kolesistektomi sonrası rekurrent pankreatit geçiren hasta sayımız 6 idi (%5,2) (Tablo 7).

Tablo 8: Operasyon Geçiren(Ercp, Kolesistektomi) Ve Rekurrent Pankreatit Olan Hastalar

	ERCP	Pankreatit sonrası Kolesistektomi olan	Kolesistektomi sonrası tekrar atak geçirenler
Biliyer pankreatit	5 (4,3)	11 (9,6)	6 (5,2)

US bulgularına göre hastalarımızın tamamında safra kesesi taşı mevcuttu. Yedi hastamızda koledok taşı ve genişliği, 10 hastamızda peripankreatik alanda ve batın içinde sıvı bulgusu saptandı. Ancak ultrasonografik olarak pankreatit görünümü olan hastamız yoktu (Tablo 8).

Tablo 9: US'de Safra Kesesi, Safra Yolları ve Pankreas Bulguları

	S.Kesesi Taşı	Koledok Taşı	Pankreatit görünümü	Batın içi sıvı
Akut biliyer pankreatit	115 (100)	7 (6,1)	0	10 (8,7)

Atlanta kriterlerine göre en çok hafif pankreatit geçirmekte olan hastamız olduğu (%90,4) izlendi. Orta şiddetli pankreatit oranının %7,8, şiddetli pankreatit oranının %1,7 olduğu görüldü (Tablo 9).

Tablo 10: Atlanta Kriterleri

		Akut biliyer pankreatit (n=115)
		n (%)
Atlanta Kriterleri	Hafif	104 (%90,4)
	Orta şiddetli	9 (%7,8)
	Şiddetli	2 (%1,7)

Akut biliyer pankreatitli hastalarımızın ortalama yatış süresi 6,5 gün idi. SİRS nedeniyle Yoğun bakım ünitesinde 1 hastamız takip edildi ve mortalite izlenmedi (Tablo 11).

Tablo 11: Yatış Süresi, YBÜ Takibi Ve Mortalite

	Yatış süresi	YBÜ takibi (SİRS)	Mortalite
Akut biliyer pankreatit	751 (6,5) gün	1	yok

TLR4 rs4986791 (Thr399Ile) gen polimorfizmi görülen hasta sayısı incelendiğinde 89 hastamızda homozigot CC alleli, 6 hastamızda heterozigot CT alleli izlendi ve yapılan sağlıklı populasyon ile karşılaştırmada akut biliyer pankreatit tanısı almış hastalarda TLR4 rs4986791 (Thr399Ile) gen polimorfizmin anlamlı olduğu ve yatkınlık oluşturabileceği ortaya konuldu ($p<0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12: TLR4 Homozigot ve Heterozigot Allel Oranı ve Sonuçlar

Genotype	Patient group	Control group	Genotype frequencies		OR - (95% CI)	p value
	N=95	N=101	Patient-Control			
TLR-4						
CC	89	80	0,94	0,79	3,894 - (1,497-10,131)	^a 0,006**
CT	6	21	0,06	0,21	0,257 – (0,099-0,668)	^a 0,006**
TT	0	0	0,00	0,00		

^aYates'Continuity Correction test

** $p<0,01$

IL-8 rs4073 (-251T/A) numaralı polimorfizmi görülen hastalar incelendiğinde 12 hastamızda AA ve 35 hastamızda TT homozigot alleli, 43 hastamızda heterozigot AT alleli izlendi ve yapılan sağlıklı populasyon ile karşılaştırmada akut biliyer pankreatit tanısı almış hastalarda IL-8 rs4073 (-251T/A) numaralı polimorfizminin anlamlı olmadığı ortaya konuldu ($p>0.05$) (Tablo 13).

Tablo 13: IL-8 Homozigot Ve Heterozigot Allel Oranı Ve Sonuçlar

Genotype	Patient group N=90	Control group N=100	Genotype frequencies Patient-Control		OR - (95% CI)	p value
IL-8						
AA	12	10	0,13	0,10	0,722 - (0,296-1,763)	0,475
AT	43	59	0,48	0,59	1,537 - (0,886-2,793)	0,122
TT	35	31	0,39	0,39	0,706 – (0,388-1,286)	0,255

Atlanta kriterlerine göre pankreatit şiddeti ile TLR4 ve IL-8 gen polimorfizm dağılımları arasında Fisher-Freeman-Halton testi ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 14).

Tablo 14: Atlanta Kriterlerine Göre Genlerin Dağılımı

		Atlanta Kriterleri			p
		Hafif	Orta şiddetli	Şiddetli	
		n (%)	n (%)	n (%)	
TLR4	CC	82 (%78,8)	5 (%55,6)	2 (%100)	1.000
Polimorfizmi	CT	6 (%5,8)	0	0	
	BOŞ	16 (%15,4)	4 (%44,4)	0	
IL-8 gen	AA	11 (%10,6)	1 (%11,1)	1 (%50,0)	0,327
polimorfizmi	AT	40 (%38,5)	3 (%33,3)	0	
	TT	32 (%30,8)	3 (%33,3)	0	
	BOŞ	21 (%20,2)	2 (%22,2)	1 (%50,0)	

Fisher Freeman Halton Test "Boş" olanlar değerlendirme dışı bırakılmıştır.

5. TARTIŞMA

Akut pankreatit gün geçtikçe daha riskli hale gelen acil bir hastalıktır. Gastrointestinal aciller içinde en sık 3. başvuru sebebidir ve komplikasyon görülme oranı %15- 20, mortalite oranı %4- 10 arasındadır. Genel popülasyonda 100.000 kişi de yaklaşık 80 kişiyi etkilemektedir, İngiltere’de bu sayının 24/100.000, Hollanda’da 10/100.000, İskandinav ülkelerinde 35/100.000, Amerika birleşik devletlerinde 79/100.000, japonya’da 45.1/100.000 olduğu söylenebilir (ss, tt, uu, vv, ww, xx). Hastanemiz acil polikliniğimize son 4 yıl içerisinde herhangi bir nedenle başvuran hasta sayısı 828.427 iken 1215 hastanın akut pankreatit tanısı ile servislerimize interne edildiği görüldü (147/100.000). Bunlardan 798 hasta akut biliyer pankreatit, 417 hasta akut non-biliyer pankreatit öntanısı ile servislerimize yatırıldı.

Hastalarımızın 76’sı kadın, 39’u erkek idi. Kadın hasta oranının akut nonbiliyer pankreatite göre daha yüksek olduğu izlendi ($p<0.05$). Yaş aralığı incelendiğinde 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

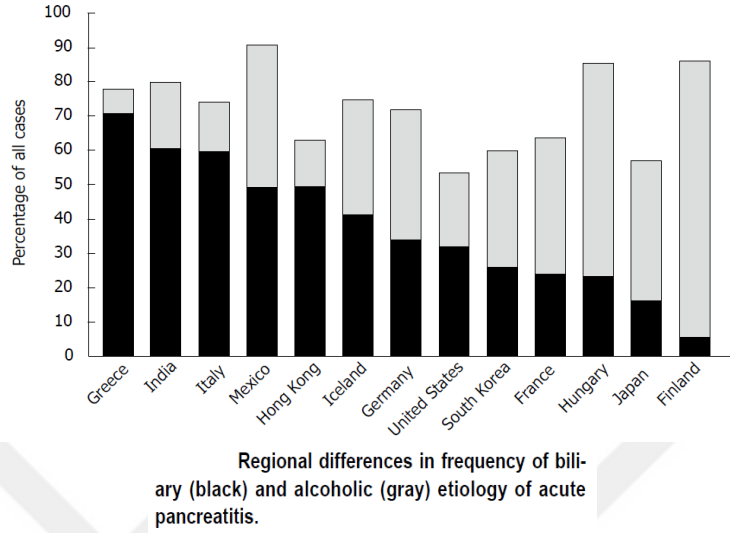
Akut pankreatit, pankreas intersisyumunda eksudasyon sonucu salgılanan sıvı içerisindeki hasar yaratan proteolitik enzimlerin etkisi ile bu sıvının peripankreatik alan ve çevre dokulara yayılımı ile olur (51). Akut pankreatit tanısında; sırta vuran epigastrik ağrı, serum amilaz ve lipaz değerlerinin normalin en az 3 katına çıkmış olması, kontrastlı batin bilgisayarlı tomografi (BT), MRI ve ultrasonografide akut pankreatite ait spesifik bulgular önemlidir. Sırta vuran epigastrik ağrı varlığında serum amilaz ve lipaz değerleri normalin 3 katına ulaşmamış olsa bile görüntüleme bulguları ile akut pankreatit tanısı konulabilir (47,51). Akut pankreatit insidansı her geçen gün artmasına rağmen ciddi hastalık oranında azalma izlenmektedir. Bu; spesifik tedavi yaklaşımlarının artması, hafif pankreatit döneminde tanı konulması ve

tanı modalitelerinin artışına bağlıdır (50). Hastalarımız genel olarak sırta vuran epigastrik ağrı, eşlik eden bulantı, kusma yakınmaları ile acil polikliniğimize başvurmuş olup yapılan laboratuvar tetkiklerinde amilaz ve lipaz seviyelerinin yükselmiş olduğu görüldü. US ve tüm abdomen BT ile görüntüleme yapıldı. MRCP ile safra yolları değerlendirildi. Amilaz ve lipaz değerlerinin 3 katına kadar yükselmediği hastalarda görüntüleme bulguları ile pankreas değerlendirilerek akut pankreatit tanısı konuldu. Fizik muayenede epigastrik bölgede hassasiyet ve defans mevcuttu. Tüm parametreler ve fizik muayene sonucu akut pankreatit düşünülen hastalar interne edildi. Akut nonbiliyer pankreatit hastaları ile yapılan laboratuvar parametreleri açısından karşılaştırma sonucunda WBC değerlerinin akut biliyer pankreatit hastalarında anlamlı olarak daha yüksek olabileceği izlendi ($p<0.05$).

Akut pankreatitin etiyolojisini anlamak, hastalığa erken dönemde doğru yaklaşım ile tedavi protokolu uygulanması ve rekurrensin önlenmesi açısından önemlidir. Spesifik bir tedavisi olmamasına rağmen akut pankreatitin nedeni mutlaka ortaya konulmalıdır. Safra taşları ve kronik alkol kullanımı etiyolojinin %60-80'inden sorumludur. Biliyer etiyoloji coğrafik özelliklere göre farklılıklar göstermektedir. Örneğin yapılan bazı çalışmalar değerlendirildiğinde Yunanistan'da biliyer etiyoloji ön plandayken Finlandiya'da alkol ön plandadır (Tablo 17) (50). Etiyolojide diğer nedenler olarak ERCP, ilaçlar, hipertrigliseridemi, genetik faktörler ve idiyopatik hastalık gösterilebilir (50). Hastanemiz servislere son 4 yılda hastanemize interne ettiğimiz 1215 akut pankreatitli hasta analiz edildiğinde %67'sinin biliyer, %33'ünün non-biliyer etiyolojili olduğu izlendi.

Akut pankreatitin batı ülkelerindeki %30-55 oranında nedeni safra taşı ya da çamurudur (tt). Biliyer pankreatit sonrası rekurrent pankreatit, akut kolesistit, kolanjit, ana safra kanalı obstruksiyonu gibi safra kesesi ve yollarına ait komplikasyonlar izlenebilir. Uluslararası makaleler, bu tür safra yolları komplikasyonlarına ve rekurren pankreatite karşı kolesistektomi ve endoskopik sfinkterotominin akut biliyer pankreatit hastalarında yapılmasını önermektedirler. Kolesistektomi zamanlaması olarak şiddetli pankreatit ve nekrotizan pankreatit gibi durumların iyileşmesinden 6 hafta sonrası optimal olarak tavsiye edilmektedir (46, 47). Hastalarımızdan 5'ine ERCP yapıldığı sonrasında 4'ünde içinde bulunduğu 11 hastamıza kolesistektomi uygulandığı, kolesistektomi yapılan 6 hastamızın (%5,2)

ve ERCP ve sonrasında kolesistektomi yapılan 3 hastamızın rekurrent pankreatit geçirdiği izlendi.



Şekil – 15 Akut Pankreatit Etiyolojisinde Alkol Ve Safra Taşının Ülkelere Göre Dağılımı

Etiyolojideki genetik faktörler incelenecek olursa; geçtiğimiz yıllarda yapılmış iki çalışmadan sözedilebilir. Gao et al. bazı hastaların neden diğerlerine göre pankreatik enfeksiyon hali geçirdiğini araştırmış, akut pankreatit sürecinde LPS ve endotoksinlerin artmış parasellüler bariyer permeabilitesine bağlı olarak kolondan bölge kaçabileceği ya da gram negatif bakterilerin dolaşım sistemine geçebileceği üzerinde durmuştur. Daha sonra LPS'lerin asiner hücrelerin ümmun hücrelerindeki TLR'lere bağlanarak etki edebileceğini açıklamaya çalışmıştır. Bazı hastalarda TLR4 polimorfizmi nedeniyle immün yanıt sisteminin yetersiz çalıştığı ve enfeksiyona yatkınlık oluşturduğunu iddia etmiştir. Başka bir çalışmada Chang et al. cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CTFR) predispozan hastaların lipid seviyelerinin yükseldiğini ve hipertrigliseridemik pankreatitin bu hastalarda daha fazla görüldüğünü ortaya koymuştur (52).

Deney farelerinde cerulein ile oluşturulan akut pankreatitte TLR-4mRNA overeksresyonunun olduğu gözlenmiştir 4. Li et al tarafından aynı özellikteki sağlıklı ve akut pankreatitli deney fareleri üzerinde yapılan bir çalışmada pankreatik

kanal epitelinde ve pankreatik mikrosirkulasyonda TLR-4 ekspresyonu izlenmiştir. Endokrin hücrelerde boyanma özelliği saptanmasına rağmen asiner hücrelerde TLR-4 proteinine rastlanmamıştır. Ayrıca TLR-4mRNA overekspresyonu bu deney hayvanlarında 1.saat sonunda pik yaparken, 4.saat sonunda bazal değerine gerilemiştir (18). Taurochlorat ile akut pankreatit oluşturulan başka bir TLR-4 negatif fare grubunda serum amilaz ve miyeloperoksidaz oranlarının karşılaştırma yapılan diğer fare türüne göre düştüğü, ödem hemoraji ve asiner hücre nekrozunun anlamlı ölçüde azaldığı izlenmiştir. Aynı zamanda ilginç bir bulgu olarak nötrofil, makrofaj ve monositlerden bir kemokin olarak salınan CXCL-2'nin de güçlü bir düşüş gösterdiği izlenmiştir (20).

Ding et al tarafından yapılan bir çalışmada aynı akut pankreatit modeli kullanılarak tezat sonuçlar da bulunmuştur. Serum amilaz değerleri ve pankreastaki histolojik değişiklikler açısından kontrol grubu ile TLR-4 negatif grup arasında fark izlenmemiştir. İlginç olarak pro-apoptotik protein düzeylerinde 2 saat sonra yapılan ölçümlerde anlamlı bir azalma görülmüş, 4 saat sonra bakılan düzeylerde ise aynı azalma görülememiştir. TLR-4 farklı hücrelerde apoptozis sürecini hızlandırıyor olabilir (21,22). Yapılan bazı çalışmalar da akut pankreatitte apoptozis sürecinin önemine değinilmiş, TLR-4'ün başlangıç ve akut pankreatitin sonlanma süreçlerinde etkili olabileceği düşünülmüştür (23,24).

Wang et al tarafından farelerde CD14 antikoru verilmesi sonrası cerulein ile oluşturulmuş akut pankreatitte; pankreas hasarında azalma, myeloperoksidaz düzeylerinde düşüş ve pro-inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunda down regülasyon olduğu izlenmiştir (25).

TLR-4 sinyal yolları da birçok çalışmada araştırılmıştır. Ding et al TLR-4 negatif farelerde IRAK-4'ün TLR-4'ten bağımsız olarak akut pankreatitte rol oynayabileceğini göstermeye çalışmıştır. Bu deneyde eksik TLR-4 etkisi ile oluşturulan sinyal iletimi beklendiği gibi IRAK-4 yanıtında artışa sebep olmamıştır. Bu sonuç diğer TLR'lerin akut pankreatitte rol oynayabileceğini göstermesi açısından anlamlıdır. TLR-2 ve TLR-9'un aktivasyonunun makrofajlardaki IRAK-4 yanıtını azaltması bu açıdan bir gösterge olabilir (26, 27). Bu hipotez yine TLR-4 negatif farelerde TRAF-6 yolu ile oluşan inflamasyonun gösterildiği başka bir

çalışma ile desteklenmiştir (28). TLR-4 akut pankreatitte özel bir inflamasyon sinyal reseptörü olmayabilir ancak kullandığı sinyal yolu önemli olabilir (3).

Bununla birlikte yapılan diğer çalışmalarda akut pankreatitte inflamasyon sinyal kaskadı ile TLR-4 arasında güçlü bir ilişki olduğu ortaya konmaya çalışılmıştır. Mononükleer inflamasyon hücrelerinde pankreatik elastaz enzimi tarafından NF- κ B'nin aktive edilmesi ile TNF-a sekresyonu oluşmaktadır (29,30). Hieteranta et al, insan myeloid hücrelerinin domuz elastazına maruz kaldığında NF- κ B ve AP1 ekspresyonunda artış olduğunu gözlemlemiştir. TLR-4 ile uyarılan elastaz aktivitesi incelendiğinde; spesifik nötralize edici antikor ile TLR-4'ün bloke edilmesi sonrası elastaza maruz kalan hücrelerde proinflamatuvar faktörlerin ekspresyonunda güçlü bir düşüş izlenmiş, yetersiz elastaz aktivitesi olduğu bildirilmiştir (31, 32). Bundan dolayı TLR-4 ilişkili inflamasyon akut pankreatitte önemli rol oynayabilir. Elastazın bloke edilmesi hastalığın şiddetini azaltabilir (3).

Akut pankreatit patofizyolojisiyle bağlantılı olarak matriks komponentleri de azalma göstermektedir. Yayınlar göstermektedir ki hyaluronandaki düşmeye bağlı düşük molekül ağırlıklı lipopolisakkarid aktivitesi TLR-4 ilişkili dentritik hücreleri aktive etmektedir (33). Ayrıca stres durumunda dentritik hücreler pankreasa karşı hücre gelişiminde rol alabilir (34). Hyaluronan blikan ve oligosakkaritleri TLR-4 ile sinyal oluşturarak makrofaj üzerinde bulunan TNF-a ve MİP-2 sekresyonu ve indüksiyonunu oluşturur (35).

Akbarshasi et al fare pankreasında heparan sülfat ile induklenen TLR-4 bağımlı immun yanıt sonucu oluşan IRF-3 yolağını incelemiştir. TLR-4 ve MyD88 negatif farelerde heparan sülfat ve lipopolisakkarit ile oluşturulan uyarı sonucu pankreasta myeloperoksidaz aktivitesinin engellendiğini ortaya koymuştur (36). Yine heparan sülfat ile oluşturulan aynı uyarı ile IRF-3 negatif farelerde de benzer etki ortaya çıkmıştır. Halbuki lipopolisakkarid bu hücrelerde oldukça güçlü bir uyarı oluşturmaktadır. Bu sonuç akut pankreatit ile ilgili geçmiş çalışmalardaki TLR-4 eksikliği ile TRAF-6 ve IRAK-4 düzeylerindeki düşüş arasındaki ilişkiyi ortaya koyabilir (26,28). Enflamasyon öncesi; lipid A analogu olan TLR-4/MDP-2'ye bağlanan ve lipid A ile yarışarak lipopolisakkarid ilişkili inflamasyonu inhibe eden;

eritoran kullanılan farelerin pankreasında heparan sülfata karşı artmış myeloperoksidaz aktivitesi izlenmiştir (37).

TLR-4 ya da ilişkili yolların inhibisyonu akut pankreatitteki pankreas hasarını iyileştirebilir. Böylece şiddetli akut pankreatit gelişimi önlenmiş olur (3).

Tüm tartışmalara rağmen geçmişte oluşturulan datalarda görüldüğü üzere TLR-4'ün fare deneylerinde oluşturulan akut pankreatitte rolü vardır. İnsanlarda gelişen akut pankreatitteki rolü ile ilgili araştırmalar dolaylı olarak DNA analizi ve kan örneklerinden alınan immün hücreler üzerinden yürütülmüştür. Çin'de Atlanta kriterlerine göre akut pankreatit tanısı alan 310 hasta üzerinden bir çalışma yürütülmüştür (38,39). 115 hastada pankreatik nekroz görülmüş, bunların 37'sinde TLR-4 896G allel'inde mutasyon saptanmıştır. 896G allel'inde mutasyon saptanmayan hastalar ile karşılaştırıldığında gram negatif enfeksiyon riskinde artış olduğu saptanmıştır. Normal popülasyondan 80 kişi ile karşılaştırma yapıldığında TLR-4 mutasyonunun pankreatik nekrotik enfeksiyon riskini artırdığı gözlenmiştir. Bununla birlikte TLR-4 Asp299 gly polimorfizminin akut pankreatitte pankreatik nekrotik enfeksiyon gelişimini artırdığı gözlenmiştir. Ancak, bu çalışma tek bir hastanede yapıldığı ve kısıtlı bir değerlendirme imkanı sunduğu için tüm Çin halkı ile ilgili öngörü değeri tartışılabilir (38,39). Zhang et al tarafından yapılan başka bir çalışmada 238 akut pankreatit hastası ile 121 normal popülasyon karşılaştırılarak Asp299 gly polimorfizmi değerlendirilmiş, anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (40). Macaristanda bir sağlık merkezinde 92 akut pankreatitli hastada yapılan DNA çalışmasında 42 akut pankreatitli hasta ile 50 şiddetli akut pankreatitli hasta Asp299 gly ve Thr399 ile polimorfizmi açısından değerlendirilmiş, anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Ayrıca 92 hasta ile 200 kişilik kontrol grubunda bir fark görülmemiştir (41). Belki de akut pankreatitte TLR-4 mutasyonuna dair en güçlü ve uluslararası çalışma Guenther et al tarafından yapılmıştır. Asp299 gly ve Thr399 ile polimorfizmi araştırılmak üzere 521 akut pankreatitli hasta (343 Amerikan, 178 Alman) ile 128 alman, 265 amerikan normal popülasyon grubu karşılaştırılmış; herhangi bir fark görülmemiştir (42). Çalışmamızda TLR4 rs4986791 (Thr399Ile) gen polimorfizmi 95 akut biliyer pankreatit hastası ile 101 sağlıklı normal popülasyon arasında karşılaştırıldı; akut biliyer pankreatit hastaları lehine polimorfizm açısından

anlamli istatistiksel bulgu elde edildi. Aynı zamanda athlanta kriterlerine göre belirlenen pankreatit şiddetinin TLR4 gen polimorfizmi ile ilişkisi değerlendirildi. Hafif, orta şiddetli ve şiddetli pankreatit hastaları arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmadı.

İnvitro ortamda akut alkol stimulasyonunun monositlerde TLR-4 ekspresyonunu inhibe ettiği çalışmalar yapılmıştır (43). Ortama lipopolisakkarit eklendiğinde proinflamatuvar yanıtın azaldığı izlenmektedir. şaşırtıcı bir şekilde ortama aynı anda LPS ve TLR-2 eklendiğinde etkinin kaybolduğu izlenmiştir. Li et al yaptığı bir çalışmada akut pankreatitte, periferik kandaki mononukleer hücrelerde hastalığın başlangıcında TLR-4 ekspresyonunun arttığını ve 1 hafta sonrasında, iyileşme sürecinde tekrar bazal değerine döndüğünü göstermiştir. TNF-a ve IL-6'nın düzeylerinde de aynı değişiklikler olması üzerine araştırmacılar TLR-4'ün akut pankreatitte önemli rol oynayabileceğini düşünmüştür (44).

Emodin ve baicalin kullanılan, oluşturulmuş akut pankreatitli farelerde; TLR-4 mRNA ekspresyonunun baskılanması neticesinde, serum amilaz ve lipaz değerlerinin, IL-6 ve TNF-a düzeylerinin azaldığı ve pankreatik hasarın gerilediği izlenmiştir. Gelecekte yapılabilecek çalışmalarla bu bulgu bir tedavi hedefi haline gelebilir (3).

Akut pankreatitte ilk etkilenen hücreler asiner hücreler ve yağ hücreleridir. Pankreatik hasar sonucu nekrotik asiner hücrelerden amilaz, lipaz bazal değerinin üzerinde salgılanır. Aynı zamanda bir DAMP olan, doku hasarı ile inflamasyonunun tetikleyen ve TLR4 sinyal yolunu kullanan HMGB1 de nekrotik asiner hücrelerden salgılanmaktadır. HMGB1 akut pankreatitli hastalarda serum seviyesi yükselerek pankreatit şiddetini etkileyen faktör olarak yerini alır. Pankreatik nekroz var ise HMGB1 multiorgan hasarı ve şiddetli pankreatit komplikasyonlarının inflamatuvar sebebi olabilir. Yine HSP70 deney farelerinde inflamasyon mediyatörü olarak TLR4 bağımlı aktive olur ve pankreatik hasarı artırır. Ancak TLR4 bağlantısı dışında HSP70'in etki mekanizması çok fazla aydınlatılamamıştır. En büyük kanıt olarak söylenebilecek olan TLR4'ün pankreatik hasarda en etkili mediyatör olduğudur. TLR4'ün genetik delesyonu pankreatitin şiddetini, diğer organ hasarlarını, hücre nekrozunu ve ödematöz ya da nekrotizan pankreatit gelişimini etkiler. Deney

farelerinde ortamda LPS ve endotoksin olmadığında bile TLR4 endojen ligandları olan HSP70 ve HMGB1 gibi DAMP'lerin etkisi ile inflamasyon ve hasar gerçekleşmektedir. TLR4 pankreatik duktal hücreler, doku makrofajları ve endotelial hücrelerden salınmasına rağmen asiner hücreler tarafından üretilmez. Endotelial hücreler ve doku makrofajları aynı zamanda DAMP duyarlı hücreler olarak bilinir (53).

Yine deney hayvanları üzerinde yapılan bir çalışmada akut pankreatitte hücre hasarı mekanizması incelenmiş, DAMP'lerin inflamasyonu tetikleyen süreçte etkili mediyatör olduğu ve bu etkiyi TLR'ler (özellikle TLR2, TLR4 ve TLR9) üzerinden gerçekleştiği ortaya konmuştur (54).

Deney hayvanları üzerinde safra yollarına %3 sodyum deoksikolat enjekte edilerek oluşturulan akut pankreatit modelinde TLR4 ve TLR2'nin immun yanıt içindeki rolü incelenmiştir. Enjeksiyonun 6 saat sonrasında bronkoalveolar sekresyondan makrofajlar izole edilmiş ve western blot-PCR yöntemi ile incelenmiştir. Kontrol grubu ile akut pankreatitli fareler TLR4 ekspresyonu açısından karşılaştırılmış ve pankreatitli grupta ekspresyonda bozukluk izlenmiştir. Bu sonuçlar LPS'ye karşı makrofaj yanıtının TLR4 ekspresyonu defektif olan farelerde azaldığını göstermiş; akut pankreatitin enfeksiyona bağlı komplikasyonlarının önlenmesinde TLR2 ve TLR4 üzerinden çalışmalar yapılabileceği önerilmiştir (55).

Pankreatitte oluşan ağrının mekanizması TLR'ler açısından araştırılmış TLR2, TLR4 ve TLR3 değerlendirilmiştir. Deney farelerinde pankreas içerisine trinitrobenzen sulfonik asit enjeksiyonu verilerek western Blot yöntemi ile TLR'ler araştırılmış, sadece TLR3'ün yükseldiği izlenmiştir. TLR2 ve TLR4 ağrı yolağındaki fonksiyonu açısından anlamlı bulunmamış ancak TLR3'ün ağrının dorsal gangliyonlara iletimindeki sinyal yolağında etkili olduğu ortaya konmuştur (56).

Gastrointestinal sistemde bekçi immun hücreler tarafından üretilen Dual oksidaz 2 (duox2) üzerinden deney farelerinde yapılmış bir çalışmada, LPS'nin pankreatik inflamasyon ve kanser gelişiminde NF-kB'yi TLR4 sinyal yolağı ile etkilediği gösterilmiştir (57).

Akut hemorajik nekrotizan pankreatitte (AHNP) görülen karaciğer hasarının moleküler sebebi, deney farelerinde klorokin ile oluşturulan AHNP modeli ile araştırılmış, TLR4 ve TLR2 gen ekspresyonunun nitrik oksit ile inhibe edildiği farelerde karaciğer hasarının azaldığını, TLR2/4 gen ekspresyonunun karaciğer hasarını artırdığı ortaya konmaya çalışılmıştır (58).

Deney farelerinde taurocholat induksiyonu ile tripsinojen aktivasyonu sonucu oluşturulan akut pankreatitte TLR4 eksik olan farelerde tripsinojen aktivitesinin tam olduğu, serum amilaz, lipaz seviyelerinde daha az yükselme olduğu ve doku İntraperitoneal cerulein enjeksiyonu ile TLR4 defektif ve TLR4 aktif deney farelerinde oluşturulan akut pankreatit ile ilgili başka bir çalışmada TRAF-6 ekspresyonunun TLR4 defektli farelerde daha yüksek oranda olduğu izlenmiştir. Aynı çalışmada TLR4 defektli farelerde pankreatik inflamasyonun ilk etapta hafif düzeyde geç dönemde ise giderek artarak pik yaptığı izlenirken TLR4 aktif farelerde inflamasyonun ilk dönemden itibaren yavaş düzeylerde arttığı görülmüştür. TLR4'ün TRAF-6 sinyal yolu ile inflamasyonu aktive ettiği ortaya konmaya çalışılmıştır (60). IRAK-4 sinyal yolağı ile TLR4 inflamasyon kaskadı üzerine yapılan benzer bir çalışmada aynı yöntem ile akut pankreatit oluşturulmuş ve TLR4 defektli farelerde enjeksiyon sonrası 1. 2. Saatlerde inflamasyonun arttığı ve geç dönem olarak belirttiğimiz 12. ve 24. Saatlerde giderek yükselerek pik yaptığı izlenmiştir (61).

Hasta bazlı diğer çalışmalardan bahsedecek olursak; TLR4'ün doğal ve kazanılmış bağışıklıktaki rolü düşünülerek Japonya'da 59 otoimmün pankreatit hastası, 126 kişilik kontrol grubu ile TLR4'ün bazı allellerindeki genetik polimorfizm taqman assay yöntemiyle karşılaştırılarak bir çalışma yapılmış; otoimmün pankreatit gelişiminde TLR4'ün herhangi bir rolü olmadığı görülmüştür (62).

Yine 132 şiddetli, 106 hafif akut pankreatitli hastanın 121 kişilik kontrol grubu ile; MBL-2 polimorfizmi ve TLR4 genindeki Asp299Gly ve 119C>A polimorfizmi açısından karşılaştırıldığı başka bir çalışmada TLR4 gen polimorfizmi açısından herhangi bir fark görülmemiş, anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (63).

Başka bir çalışmada periferik kandaki mononükleer hücrelerden izole edilen TLR4'ler, 30 akut pankreatitli hastadan alınan 1.gün, ve 7, gün kanlar üzerinden değerlendirilmiş, ilk gün TLR4 ekspresyonunda görülen anlamlı artış 7.gün alınan kan örneklerinde izlenmemiştir. Mononükleer hücreler ve makrofajların immun yanıtlarında TLR4'ün aktif rol oynadığı bu çalışma sonucunda söylenebilir (64).

Çalışmamızda TLR4 rs4986791 (Thr399Ile) polimorfizmi açısından 115 hasta 105 kişilik kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiş; 95 hasta, 101 kişilik sağlıklı populasyon ile polimorfizm açısından karşılaştırılmış; sonuçlar TLR4 rs4986791 (Thr399Ile) geninde polimorfizm olduğunu ve bu nedenle akut pankreatite yatkınlık olabileceğini ortaya koymuştur ($p=0.003$).

İnterlökin 8

Sitokinler akut pankreatitin patogeneğinde başlıca rolü oynarlar. Doku hasarı, organ disfonksiyonu ya da şiddetli hastalık oluşmasındaki başlıca sorumlu inflamatuvar moleküllerdir. Ayrıca asiner hücre hasarı oluşturabilen serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkışı ve etkisi bilinmesine rağmen patogenezi ile ilgili yeterince bilgi henüz ortaya çıkarılamamıştır. Bu adım pankreatik nekroza giden süreçte inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu ve güçlü etkisini ortaya koyması açısından önemlidir (67,68).

Akut pankreatitteki inflamatuvar hücrelerin göçü ve aktivasyonu ile ortaya çıkan proinflamatuvar sitokinlerin başlıcaları IL-6, IL-8, IL-18, TNF-a'dır. Bu proinflamatuvar sitokinler pankreatik hücredeki stellate hücreleri aktive ederek alkolik hepatitteki hepatik fibrozis oluşumu ve siroza gidişteki gibi fibrin birikimini ve skar oluşumunu tetiklerler. Bunlara rağmen henüz inflamasyondaki sitokin aktivitesi ile ilgili oldukça az bilgi mevcuttur. Eğer inflamatuvar etiyolojiler için ayrı sinyal ve sitokin yolları mevcut ise farklı tedavi modülleri ve metodları geliştirmek açısından bu çalışmalardan yararlanılabilir (68).

Yapılan bir çalışmada 15 aylık periyotta 75 hasta prospektif çalışmaya dahil edilerek içerisinde 60 akut pankreatit hastası saptanmış ve 1. 2. ve 14. Günlerde kan örnekleri alınarak IL-6, 8, 18 ve TNF-a'nın etkisi değerlendirilmiştir. Sadece IL-8 seviyelerinin alkolik pankreatit grubunda biliyer pankreatit grubuna göre anlamlı

olarak yüksek olduğu tespit edildi. Bu çalışmada etiyolojik olarak anlamlı olan IL-8'in klinik ve biyokimyasal olarak akut pankreatit sürecinde ve özellikle de alkolik pankreatitte önemli bir sitokin olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmada biliyer pankreatitli hastalarda hafif pankreatitte şiddetli pankreatite göre IL-8 seviyelerinin daha az olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda hafif biliyer pankreatitli hastalar alkolik pankreatit hastaları ile karşılaştırıldığında serum IL-8 seviyelerinin daha az olduğu yine gösterilmiştir (68).

Alkol tüketimi fazla olanlarda yapılan bir çalışmada IL-8 serum düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (70).

IL-8 primer olarak endotel hücreleri ve makrofajlarda sentezlenerek salınır. Nötrofil için kemotaktiktir ve salınanları sinyaliz eder. Bunun yanında nötrofil dışındaki birçok sinyal molekülünü aktive eder (71,72).

Başka bir çalışmada 26 akut pankreatitli hastadan alınan kanlarda IL-8, CRP ve TNF-a seviyeleri değerlendirilmiş, akut pankreatitin erken döneminde IL-8 seviyelerinin ileri derecede yükseldiği gösterilmiş ve CRP'ye göre daha efektif bir belirteç olabileceği ileri sürülmüştür (73).

Akut pankreatit tanısı almış 108 hastada kan serum örnekleri alınarak beyaz kan hücrelerinde bulunan 25 farklı sitokindeki mRNA ekspresyonu real time polimeraz zincir reaksiyonu değerlendirilerek incelenmiş, şiddetli ve nekrotizan pankreatitli hastalarda lenfosit dolaşımının belirgin olarak azaldığı görülmüştür. SİRS ile bağlantılı olan Şiddetli pankreatitte proinflamatuvar meddyatörler olan IL-6, IL-8 ve MİF'in ekspresyonunun arttığı izlenmiştir (74).

IL-8 en akut pankreatit ve diğer inflamasyon süreçlerinde en önemli inflamatuvar mediyatörlerden biridir. Aktive olan nötrofillerden salınarak etki eder (77,78). Aynı zamanda TNF-a tarafından oluşturulan nötrofil aktivasyonu etkisi ile görev yapan önemli sekonder mediyatörlerdendir (aaaa).

Yine insanlar üzerinde yapılan başka bir meta analiz çalışmasında IL-8 251 alleli PCR ve DNA analizi yöntemi ile incelenmiş, şiddetli pankretit hafif ve orta şiddette pankreatit ile sağlıklı kontrol gurubu arasında anlamlı bir polimorfizm farkı

bulunamamıştır. Bunun yanında anlamlı fark görülen çalışmalarla birlikte değerlendirildiğinde polimorfizmin bölgelerde yaşayan farklı topluluklarda değişiklik gösterebileceği iddia edilmiştir (bbbb).

Çalışmamızda IL-8 rs4073 (-251T/A) numaralı genetik polimorfizmin araştırıldığı 90 kişilik hasta grubu, 100 kişilik kontrol grubu ile karşılaştırılmış; akut biliyer pankreatite yatkınlık oluşturabilecek farklı bir istatistiksel bulgu izlenmemiştir. Aynı zamanda athlanta kriterlerine göre belirlenen pankreatit şiddetinin farklı olduğu gruplar arasında da IL-8 rs4073 (-251T/A) numaralı genetik polimorfizmi açısından istatistiksel olarak farklı bir bulgu saptanmadı.



6. SONUÇLAR

TLR4'ün akut pankreatitte görülen inflamasyondaki rolü ile ilgili yapılmış birçok çalışma mevcuttur (66). Otoimmün pankreatitlerde ve genel olarak akut pankreatitlerde insanlardan alınan kan örneklerinde yapılmış çalışmalar yanında deney fareleri üzerinde oluşturulmuş akut pankreatit yoluyla yapılmış çalışmalar değerlendirilmiştir. Ancak akut pankreatitin etiyolojisini oluşturan faktörler arasında her bir etkenin ayrıca değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Akut biliyer pankreatitin safra kesesi ya da safra yolları kaynaklı taşların/çamurun oluşturduğu mekanik bir tıkanıklık sonucu olduğu söylenebilir. Ancak bahsettiğimiz çalışmalar ışığında çalışmamızda da TLR4 gen polimorfizmi görülen hastaların istatistiksel veri sonuçlarına göre akut biliyer pankreatite yatkınlığı olduğu söylenebilir. Kabul edilmiş bir bilgi olarak safra taşına bağlı mekanik nedenlerden çok polimorfizm görülmesi akut biliyer pankreatit gelişiminde daha önemli bir role sahip olabilir. Bu konuda daha yüksek sayılı hasta grupları ile farklı toplumlarda çalışmalar yapılması akut biliyer pankreatit tedavisinde genetik faktörlere yönelik tedavi rejimlerinin de etkili olabileceğini ya da önleyici olması açısından polimorfizm görülen kişilerde profilaktik uygulamalar ile tedavi metodları geliştirilmesi açısından önemli olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Schwartz's principles of surgery, bölüm 32, sf 1265-1284
2. Sabiston textbook of surgery, bölüm 53, sf 1643-1647
3. Controversial role of toll-like receptors in acute pancreatitis Juan Vaz, Hamid Akbarshahi, Roland Andersson *World J Gastroenterol* 2013 February 7; 19(5): 616-630
4. Ding JL, Zhou ZG, Zhou XY, Zhou B, Wang L, Wang R, Zhan L, Sun XF, Li Y. Attenuation of Acute Pancreatitis by Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α in Rats: The Effect on Toll-Like Receptor Signaling Pathways. *Pancreas* 2013; 42: 114-122 [PMID: 22722259]
5. Asea A, Rehli M, Kabingu E, Boch JA, Bare O, Auron PE, Stevenson MA, Calderwood SK. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J Biol Chem* 2002; 277: 15028-15034 [PMID: 11836257 DOI: 10.1074/jbc.M200497200]
6. Takagi Y, Masamune A, Kume K, Satoh A, Kikuta K, Watanabe T, Satoh K, Hirota M, Shimosegawa T. Microsatellite polymorphism in intron 2 of human Toll-like receptor 2 gene is associated with susceptibility to acute pancreatitis in Japan. *Hum Immunol* 2009; 70: 200-204 [PMID: 19280717 DOI: 10.1016/j.humimm.2009.01.006]
7. Boraska Jelavić T, Barisić M, Drmic Hofman I, Boraska V, Vrdoljak E, Peruzović M, Hozo I, Puljiz Z, Terzić J. Microsatellite GT polymorphism in the toll-like receptor 2 is associated with colorectal cancer. *Clin Genet* 2006; 70: 156-160 [PMID: 16879199 DOI: 10.1111/j.1399-0004.2006.00651.x]
8. Yim JJ, Lee HW, Lee HS, Kim YW, Han SK, Shim YS, Holland SM. The association between microsatellite polymorphisms in intron II of the human Toll-like receptor 2 gene and tuberculosis among Koreans. *Genes Immun* 2006; 7: 150-155 [PMID: 16437124 DOI: 10.1038/sj.gene.6364274]

9. Veltkamp M, Wijnen PA, van Moorsel CH, Rijkers GT, Ruven HJ, Heron M, Bekers O, Claessen AM, Drent M, van den Bosch JM, Grutters JC. Linkage between Toll-like receptor (TLR) 2 promotor and intron polymorphisms: functional effects and relevance to sarcoidosis. *Clin Exp Immunol* 2007; 149: 453-462 [PMID: 17565608 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03428.x]
10. Szabo G, Mandrekar P, Oak S, Mayerle J. Effect of ethanol on inflammatory responses. Implications for pancreatitis. *Pancreatology* 2007; 7: 115-123 [PMID: 17592223 DOI: 10.1159/000104236]
11. Piccinini AM, Midwood KS. DAMPening inflammation by modulating TLR signalling. *Mediators Inflamm* 2010; 2010: 672395 [PMID: 20706656 DOI: 10.1155/2010/672395]
12. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997; 388: 394-397 [PMID: 9237759]
13. Lee CC, Avalos AM, Ploegh HL. Accessory molecules for Toll-like receptors and their function. *Nat Rev Immunol* 2012; 12: 168-179 [PMID: 22301850 DOI: 10.1038/nri3151]
14. Ding Y, Subramanian S, Montes VN, Goodspeed L, Wang S, Han C, Teresa AS, Kim J, O'Brien KD, Chait A. Toll-like receptor 4 deficiency decreases atherosclerosis but does not protect against inflammation in obese low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32: 1596-1604 [PMID: 22580897 DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.249847]
15. Lepenies J, Eardley KS, Kienitz T, Hewison M, Ihl T, Stewart PM, Cockwell P, Quinkler M. Renal TLR4 mRNA expression correlates with inflammatory marker MCP-1 and profibrotic molecule TGF- β 1 in patients with chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2011; 119: c97-c104 [PMID: 21677444 DOI:10.1159/000324765]
16. Kingsnorth A, O'Reilly D. Acute pancreatitis. *BMJ* 2006; 332: 1072-1076 [PMID: 16675814 DOI: 10.1136/bmj.332.7549.1072]
17. Frossard JL, Steer ML, Pastor CM. Acute pancreatitis. *Lancet* 2008; 371: 143-152 [PMID: 18191686 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60107-5]
18. Li Y, Zhou ZG, Xia QJ, Zhang J, Li HG, Cao GQ, Wang R, Lu YL, Hu TZ. Toll-like receptor 4 detected in exocrine pancreas and the change of expression in cerulein-induced pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30: 375-381 [PMID: 15841051 DOI: 10.1097/01.mpa.0000160959.21580.41]

19. Li Y, Zhou ZG, Zhang J, Chen YD, Li HG, Gao HK, Wang R, Hu TZ. Microcirculatory detection of Toll-like receptor 4 in rat pancreas and intestine. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006; 34: 213-219 [PMID:16543639]
20. 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: 1093-1098 [PMID: 21863370 DOI: 10.1007/s00011-011-0370-1]
21. Ding SQ, Li Y, Zhou ZG, Wang C, Zhan L, Zhou B. Toll-like receptor 4-mediated apoptosis of pancreatic cells in cerulein-induced acute pancreatitis in mice. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 645-650 [PMID: 21134836]
22. Salaun B, Romero P, Lebecque S. Toll-like receptors' two-edged sword: when immunity meets apoptosis. *Eur J Immunol* 2007; 37: 3311-3318 [PMID: 18034428 DOI: 10.1002/eji.200737744]
23. Bhatia M. Apoptosis of pancreatic acinar cells in acute pancreatitis: is it good or bad? *J Cell Mol Med* 2004; 8: 402-409 [PMID: 15491516 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2004.tb00330.x]
24. Cao Y, Adhikari S, Clément MV, Wallig M, Bhatia M. Induction of apoptosis by crambene protects mice against acute pancreatitis via anti-inflammatory pathways. *Am J Pathol* 2007; 170: 1521-1534 [PMID: 17456759 DOI: 10.2353/ajpath.2007.061149]
25. Wang X, Wu L, Wu K, Zhang R, Dong Y. Roles of endotoxin-related signaling molecules in the progression of acute necrotizing pancreatitis in mice. *Pancreas* 2005; 31: 251-257 [PMID:16163057 DOI: 10.1097/01.mpa.0000175179.62916.17]
26. Ding JL, Li Y, Zhou XY, Wang L, Zhou B, Wang R, Liu HX, Zhou ZG. Potential role of the TLR4/IRAK-4 signaling pathway in the pathophysiology of acute pancreatitis in mice. *Inflamm Res* 2009; 58: 783-790 [PMID: 19434478 DOI: 10.1007/s00011-009-0048-0]
27. Hatao F, Muroi M, Hiki N, Ogawa T, Mimura Y, Kaminishi M, Tanamoto K. Prolonged Toll-like receptor stimulation leads to down-regulation of IRAK-4 protein. *J Leukoc Biol* 2004; 76: 904-908 [PMID: 15258191 DOI: 10.1189/jlb.0504277]
28. Zhou XY, Zhou ZG, Ding JL, Wang L, Wang R, Zhou B, Gu J, Sun XF, Li Y. TRAF6 as the key adaptor of TLR4 signaling pathway is involved in acute pancreatitis. *Pancreas* 2010; 39: 359-366 [PMID:19823099 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181bb9073]
29. Jaffray C, Yang J, Carter G, Mendez C, Norman J. Pancreatic elastase activates pulmonary nuclear factor kappa B and inhibitory kappa B, mimicking pancreatitis-

associated adult respiratory distress syndrome. *Surgery* 2000; 128: 225-231 [PMID: 10922996 DOI: 10.1067/msy.2000.107419]

30. Jaffray C, Mendez C, Denham W, Carter G, Norman J. Specific pancreatic enzymes activate macrophages to produce tumor necrosis factor-alpha: role of nuclear factor kappa B and inhibitory kappa B proteins. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 370-377 [PMID: 11058855 DOI: 10.1016/S1091-255X(00)80015-3]
31. Hietaranta A, Mustonen H, Puolakkainen P, Haapiainen R, Kemppainen E. Proinflammatory effects of pancreatic elastase are mediated through TLR4 and NF-kappaB. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 323: 192-196 [PMID: 15351720 DOI:10.1016/j.bbrc.2004.08.077]
32. Lüthen R, Niederau C, Grendell JH. Intrapancreatic zymogen activation and levels of ATP and glutathione during caerulein pancreatitis in rats. *Am J Physiol* 1995; 268: G592-G604 [PMID:7537455]
33. Termeer C, Benedix F, Sleeman J, Fieber C, Voith U, Ahrens T, Miyake K, Freudenberg M, Galanos C, Simon JC. Oligosaccharides of Hyaluronan activate dendritic cells via toll-like receptor 4. *J Exp Med* 2002; 195: 99-111 [PMID: 11781369 DOI:10.1084/jem.20001858]
34. Bedrosian AS, Nguyen AH, Hackman M, Connolly MK, Malhotra A, Ibrahim J, Cieza-Rubio NE, Henning JR, Barilla R, Rehman A, Pachter HL, Medina-Zea MV, Cohen SM, Frey AB, Acehan D, Miller G. Dendritic cells promote pancreatic viability in mice with acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2011; 141: 1915-26.e1-14 [PMID: 21801698 DOI:10.1053/j.gastro.2011.07.033]
35. Schaefer L, Babelova A, Kiss E, Hausser HJ, Baliova M, Krzyzankova M, Marsche G, Young MF, Mihalik D, Götte M, Malle E, Schaefer RM, Gröne HJ. The matrix component biglycan is proinflammatory and signals through Toll-like receptors 4 and 2 in macrophages. *J Clin Invest* 2005; 115: 2223-2233 [PMID: 16025156 DOI: 10.1172/JCI23755]
36. Akbarshahi H, Axelsson JB, Said K, Malmström A, Fischer H, Andersson R. TLR4 dependent heparan sulphateinduced pancreatic inflammatory response is IRF3-mediated. *J Transl Med* 2011; 9: 219 [PMID: 22188870 DOI:10.1186/1479-5876-9-219]
37. Yeh YC, Ko WJ, Chan KC, Fan SZ, Tsai JC, Cheng YJ, Sun WZ. Effects of eritoran tetrasodium, a toll-like receptor 4 antagonist, on intestinal microcirculation in endotoxemic rats. *Shock* 2012; 37: 556-561 [PMID: 22392144 DOI: 10.1097/SHK.0b013e31824e20ef]

38. Gao HK, Zhou ZG, Li Y, Chen YQ. Toll-like receptor 4 Asp- 299Gly polymorphism is associated with an increased risk of pancreatic necrotic infection in acute pancreatitis: a study in the Chinese population. *Pancreas* 2007; 34: 295-298 [PMID:17414051 DOI:10.1097/mpa.0b013e3180332674a]
39. Bradley EL. A clinically based classification system for acute pancreatitis. Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis, Atlanta, Ga, September 11 through 13, 1992. *Arch Surg* 1993; 128: 586-590 [PMID: 8489394 DOI:10.1001/archsurg.1993.01420170122019]
40. Zhang D, Zheng H, Zhou Y, Yu B, Li J. TLR and MBL gene polymorphisms in severe acute pancreatitis. *Mol Diagn Ther* 2008; 12: 45-50 [PMID: 18288881 DOI: 10.1007/BF03256267]
41. Hofner P, Balog A, Gyulai Z, Farkas G, Rakonczay Z, Takács T, Mándi Y. Polymorphism in the IL-8 gene, but not in the TLR4 gene, increases the severity of acute pancreatitis. *Pancreatology* 2006; 6: 542-548 [PMID: 17124436 DOI:10.1159/000097363]
42. Guenther A, Aghdassi A, Muddana V, Rau B, Schulz HU, Mayerle J, Kraft M, Whitcomb DC, Lerch MM, Weiss FU. Toll-like receptor 4 polymorphisms in German and US patients are not associated with occurrence or severity of acute pancreatitis. *Gut* 2010; 59: 1154-1155 [PMID: 20587548 DOI:10.1136/gut.2009.192492]
43. Szabo G, Mandrekar P, Oak S, Mayerle J. Effect of ethanol on inflammatory responses. Implications for pancreatitis. *Pancreatology* 2007; 7: 115-123 [PMID: 17592223 DOI:10.1159/000104236]
44. Li HG, Zhou ZG, Li Y, Zheng XL, Lei S, Zhu L, Wang Y. Alterations of Toll-like receptor 4 expression on peripheral blood monocytes during the early stage of human acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1973-1978 [PMID: 17415654 DOI: 10.1007/s10620-006-9211-4]
45. Roberts SE, Thorne K, Evans PA, Akbari A, Samuel DG, Williams JG. Mortality following acute pancreatitis: social deprivation, hospital size and time of admission: record linkage study. *BMC Gastroenterol.* 2014 Aug 28;14(1):153.

46. Bouwense SA¹, Besselink MG, van Brunschot S, Bakker OJ, van Santvoort HC, Schepers NJ, Boermeester MA, Bollen TL, Bosscha K, Brink MA, Bruno MJ, Consten EC, Dejong CH, van Duijvendijk P, van Eijck CH, Gerritsen JJ, van Goor H, Heisterkamp J, de Hingh IH, Kruijt PM, Molenaar IQ, Nieuwenhuijs VB, Rosman C, Schaapherder AF, Scheepers JJ, Spanier MB, Timmer R, Weusten BL, Witteman BJ, van Ramshorst B, Gooszen HG, Boerma D; Dutch Pancreatitis StudyGroup.
Pancreatitis of biliary origin, optimal timing of cholecystectomy (PONCHO trial): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2012 Nov 26;13:225. doi: 10.1186/1745-6215-13-225.
47. Romero-González R¹, Garza-Garza A, Perez-Maldonado LM, Romero-González R, Pulido-Rodríguez J, González-Velázquez F. Evaluation of previous abdominal pain episodes in women with biliary pancreatitis: possible higher incidence of recurrent attacks. *Trop Gastroenterol*. 2012 Oct-Dec;33(4):270-4.
48. Stimac D¹, Mikolasevic I, Krznaric-Zrnic I, Radic M, Milic S. Epidemiology of Acute Pancreatitis in the North Adriatic Region of Croatia during the Last Ten Years. *Gastroenterol Res Pract*. 2013;2013:956149. doi: 10.1155/2013/956149.
49. Garip G¹, Sarandöl E, Kaya E.
Effects of disease severity and necrosis on pancreatic dysfunction after acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2013 Nov 28;19(44):8065-70. doi: 10.3748/wjg.v19.i44.8065.
50. Phillip V, Steiner JM, Algül H.
Early phase of acute pancreatitis: Assessment and management. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2014 Aug 15;5(3):158-68. doi: 10.4291/wjgp.v5.i3.158
51. Busireddy KK, AlObaidy M, Ramalho M, Kalubowila J, Baodong L, Santagostino I, Semelka RC. Pancreatitis-imaging approach. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2014 Aug 15;5(3):252-70. doi: 10.4291/wjgp.v5.i3.252
52. Edwin Thrower, Sohail Husain, Fred Gorelick. Molecular basis for pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2008 September; 24(5): 580–585. doi:10.1097/MOG.0b013e32830b10e6.
53. Hoque R, Malik AF, Gorelick F, Mehal WZ.
[Sterile inflammatory response in acute pancreatitis](#). *Pancreas*. 2012 Apr;41(3):353-7. doi: 10.1097/MPA.0b013e3182321500. Review.

54. [Kang R](#), [Lotze MT](#), [Zeh HJ](#), [Billiar TR](#), [Tang D](#).
Cell Death and DAMPs in Acute Pancreatitis. [Mol Med](#). 2014 Aug 5.
doi:10.2119/molmed.2014.00117.
55. Takahiro nakajima, yoshikazu kuroda Decreased Expression of Toll-like Receptor 2 and 4 on Macrophages in Experimental Severe Acute Pancreatitis Kobe J. Med. Sci., Vol. 53, No. 5, pp. 219-227, 2007
56. [Qian NS¹](#), [Liao YH](#), [Feng QX](#), [Tang Y](#), [Dou KE](#), [Tao KS](#).
Spinal toll like receptor 3 is involved in chronic pancreatitis induced mechanical allodynia of rat. [Mol Pain](#). 2011 Feb 22;7:15. doi: 10.1186/1744-8069-7-15.
57. [Wu Y¹](#), [Lu J](#), [Antony S](#), [Juhasz A](#), [Liu H](#), [Jiang G](#), [Meitzler JL](#), [Hollingshead M](#), [Haines DC](#), [Butcher D](#), [Roy K](#), [Doroshov JH](#). [J Immunol](#). 2013 Feb 15;190(4):1859-72. doi: 10.4049/jimmunol.1201725. Jan 7. Activation of TLR4 is required for the synergistic induction of dual oxidase 2 and dual oxidase A2 by IFN-γ and lipopolysaccharide in human pancreatic cancer cell lines.
58. [Zhang L¹](#), [Wu HS](#), [Chen Y](#), [Guo XJ](#), [Wang L](#), [Wang CY](#), [Zhang JH](#), [Tian Y](#).
Role of nitric oxide in Tolllike receptor 2 and 4 mRNA expression in liver of acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis rats. [World J Gastroenterol](#). 2006 Jan 21;12(3):485-8.
59. [Awla D¹](#), [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 Dec;60(12):1093-8. doi: 10.1007/s00011-011-0370-1. Epub 2011 Aug 24.
60. [Zhou XY¹](#), [Zhou ZG](#), [Ding JL](#), [Wang L](#), [Wang R](#), [Zhou B](#), [Gu J](#), [Sun XF](#), [Li Y](#) TRAF6 as the key adaptor of TLR4 signaling pathway is involved in acute pancreatitis. [Pancreas](#). 2010 Apr;39(3):359-66. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181bb9073.
61. [Ding JL¹](#), [Li Y](#), [Zhou XY](#), [Wang L](#), [Zhou B](#), [Wang R](#), [Liu HX](#), [Zhou ZG](#). Potential role of the TLR4/IRAK-4 signaling pathway in the pathophysiology of acute pancreatitis in mice. [Inflamm Res](#). 2009 Nov;58(11):783-90. doi: 10.1007/s00011-009-0048-0.
62. [Umemura T¹](#), [Katsuyama Y](#), [Hamano H](#), [Kitahara K](#), [Takayama M](#), [Arakura N](#), [Kawa S](#), [Tanaka E](#), [Ota M](#). Association analysis of Toll-like receptor 4 polymorphisms with autoimmune pancreatitis. [Hum Immunol](#). 2009 Sep;70(9):742-6. doi:10.1016/j.Humimm.2009.05.009.

63. Zhang D¹, Zheng H, Zhou Y, Yu B, Li J. TLR and MBL gene polymorphisms in severe acute pancreatitis. *Mol Diagn Ther*. 2008;12(1):45-50.
64. Li HG¹, Zhou ZG, Li Y, Zheng XL, Lei S, Zhu L, Wang Y. Alterations of Toll-like receptor 4 expression on peripheral blood monocytes during the early stage of human acute pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2007 Aug;52(8):1973-8.
65. [Guenther A](#), [Aghdassi A](#), [Muddana V](#), [Rau B](#), [Schulz HU](#), [Mayerle J](#), [Kraft M](#), [Whitcomb DC](#), [Lerch MM](#), [Weiss FU](#).
66. Toll-like receptor 4 polymorphisms in German and US patients are not associated with occurrence or severity of acute pancreatitis. *Gut*. 2010 Aug;59(8):1154-5. doi: 10.1136/gut.2009.192492.
67. Apte MV, Pirola RC, Wilson JS. Molecular mechanisms of alcoholic pancreatitis. *Dig Dis* 2005; 23:232-40. [PMID 16508287]
68. 10. Weber CK, Adler G. From acinar cell damage to systemic inflammatory response: current concepts in pancreatitis. *Pancreatology* 2001; 1:356-62. [PMID 12120214]
69. Srdan Novovic, Anders Møller Andersen, Annette Kjær Ersbøll, Ole Haagen Nielsen, Lars Nannestad Jorgensen, Mark Berner Hansen Proinflammatory Cytokines in Alcohol or Gallstone Induced Acute Pancreatitis. A Prospective Study *JOP. J Pancreas (Online)* 2009 May 18; 10(3):256-262.
70. Gonzalez-Quintela A, Campos J, Gude F, Perez LF, Tomé S. Serum concentrations of interleukin-8 in relation to different levels of alcohol consumption. *Cytokine* 2007; 38:54-60. [PMID 17576072]
71. Wilson PG, Manji M, Neoptolemos JP. Acute pancreatitis as a model of sepsis. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41 Suppl A:51-63. [PMID 9511087]
72. Mukaida N. Interleukin-8: an expanding universe beyond neutrophil chemotaxis and activation. *Int J Hematol* 2000; 72:391-8. [PMID 11197203]
73. Michael K. Digalakis, Iraklis E. Katsoulis, Kalliopi Biliri, and Katina Themeli-Digalaki Necrosis Factor- α in Patients with Acute Pancreatitis Volume 2009, Article ID 878490, 5 pages doi:10.1155/2009/878490
74. Zilvinas Dambrauskas, Nathalia Giese, Antanas Gulbinas, Thomas Giese, Pascal O Berberat, Juozas Pundzius, Giedrius Barauskas, Helmut Friess Different profiles of cytokine expression during mild and severe acute pancreatitis *World J Gastroenterol* 2010 April 21; 16(15): 1845-1853 doi:10.3748/wjg.v16.i15.1845
75. A. Kingsnorth, "Role of cytokines and their inhibitors in acute pancreatitis," *Gut*, vol. 40, no. 1, pp. 1–4, 1997.

76. C. A. Rettally, S. Skarda, M. A. Garza, S. Schenker, and J. H. Grendell, "The usefulness of laboratory tests in the early assessment of severity of acute pancreatitis," *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, vol. 40, no. 2, pp. 117–149, 2003.
77. A. A. Sandberg and A. Borgström, "Early prediction of severity in acute pancreatitis. Is this possible?" *Journal of the Pancreas*, vol. 3, no. 5, pp. 116–125, 2002.
78. Wei-Chang Chen, Jin-Shan Nie Genetic polymorphism of MCP-1-2518 , IL-8-251 and susceptibility to acute pancreatitis: A pilot study in population of Suzhou, China *World J Gastroenterol* 2008 October 7; 14(37): 5744-5748 doi:10.3748/wjg.14.574