

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

156959

**LAPARASKOPİK VE KONVANSİYONEL
CERRAHİ YÖNTEMLERİNİN, SERUM SİTOKİN
DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

(UZMANLIK TEZİ)
Dr. Ercan GEDİK

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. İbrahim H. TAÇYILDIZ

DİYARBAKIR - 2004

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
AMAÇ.....	3
GENEL BİLGİLER.....	4
MATERYAL VE METOD.....	13
BULGULAR.....	17
TARTIŞMA.....	25
SONUÇ.....	30
ÖZET.....	31
SUMMARY.....	33
KAYNAKLAR.....	35

GİRİŞ

Tıp, her zaman değişen bir bilimdir. Yeni araştırmalar ve klinik deneyler sonucunda bilgi dağarcığımız genişledikçe, sağaltım ve ilaç tedavisinde değişiklikler gerekmektedir. Cerrahi yaklaşımın temel kuralı olan, hastanın metabolizma ve savunma sistemlerine en düşük oranda zarar verecek cerrahi teknik ve metotlar geliştirilmektedir. Bu kapsamda son yıllarda teknolojinin yardımıyla, organizmanın savunma mekanizmalarına en az zarar veren teknik, alet ve malzemeler cerrahinin kullanım alanına sokulmuştur.

Günümüzde, gastrointestinal sistem cerrahi girişimlerinden çoğu videolaparoskopik sistemle gerçekleştirilebilmektedir. Endoskopik cerrahi yöntem bu alanda en ileri teknik gelişmelerdendir. Laparoskopik cerrahinin birçok avantajı vardır;

- İnsizyonların küçük olması,
- Ağrının az olması,
- Mobilizasyonun erken olması,
- Düşük morbidite,
- Kısa hastanede kalış süresi,
- Normal günlük aktivitelerine erken dönüş,
- Üstün kozmetik sonuç,
- Postoperatif ileusun erken ortadan kalkması ^(1,2,3,4).

Endoskopik yöntemle, vücut dokularına daha az zarar verilerek yara iyileşmesi sürecinin getirdiği sorunlar azaltılmıştır ⁽⁵⁾. Aynı zamanda organizmanın sistemik, metabolik ve inflamatuvar yanıtlarında daha az olumsuz etkiler oluşmaktadır ⁽⁶⁾. Cerrahi travmanın neden olduğu immün sistemdeki olumsuzlukların endoskopik cerrahi işlemlerde göz ardı edilebilen düzeylerde geliştiği bildirilmektedir ⁽⁷⁾.

Endoskopik yöntemle yapılan intraabdominal operasyonların immünolojik mekanizmalara etkileri güncel çalışmaların konuları arasındadır. Laparatominin peritoneal savunmanın ve sistemik immün yanıtın gerçekleşmesinde önemli rolü olan peritoneal makrofajların fonksiyonlarına olumsuz etkileri olduğu biliniyor. Laparotomi

sonrası erken dönemde peritoneal makrofajların sayısında, görünümünde, fagositik aktivitelerinde ve antijen presentasyon yeteneklerinde düşüş olmaktadır ⁽⁸⁾. Laparoskopik cerrahi işlemlerde oluşturulan CO₂ pneumoperitoneumun, peritoneal makrofajların sayı ve aktivasyonunda azalmaya yol açtığı görülmüştür ⁽⁷⁾.



AMAC

Doku hasarına karşı oluşan klasik nöroendokrin ve inflamatuvar cevap hala tartışmalıdır. Doku hasarıyla oluşan hormonal değişiklikler normale döndükten sonra bile, organ disfonksiyonunun devam etmesi ve meydana gelen geç mortaliteler başka mediatörlerinde etkili olduğunu düşündürmektedir. Bu mediatörler genellikle immünoisitlerce sentez edilen protein ve lipid yapısında olan moleküllerdir. Bu mikromoleküller, *sitokinler* olarak adlandırılmaktadır ⁽⁹⁾.

Laparoskopik cerrahi uygulanan hastalar ile açık cerrahi uygulanan hastaların operatif streslerini karşılaştırmak için birçok biyokimyasal parametre kullanılmıştır. Biz bu çalışmamızda laparoskopik ve açık cerrahi uygulanan sıçanlarda, immün sistemin bir parçası olan sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) serum düzeylerine bakarak, bu iki farklı cerrahi yöntemin immün sisteme olan etkilerini karşılaştırmak amacıyla çalışmamızı planladık.

GENEL BİLGİLER

LAPARASKOPİK CERRAHİ VE PNEUMOPERİTONEUM

Laparaskopi bir endoskop ile abdominal boşluğu görme fikrinden doğmuştur. 1901'de canlı bir köpekte bir sistoskop ile ilk laparaskopiyi yapan Georg Kelling' i birçok cerrah izlemiştir; Rektoskop, Nazofarengoskop, Sistoskop gibi konvansiyonel araçlarla yapılan diagnostik laparaskopi ve torakoskopi serileri oluşturulmuştur. 1950'li yıllarda hepatolog olan Kalk' ın çift trokar sistemini geliştirmesiyle terapötik laparoskopik işlemler gerçekleştirilmeye başlanmıştır. 1960'larda Kurt Semm' in pneumoperitoneumu oluşturmada otomatik insuflasyon aletlerini kullanıma sokması ve Hopkins' in fiberoptik sistemi icadıyla özellikle jinekolojide laparoskopik yöntemin kullanımı yaygınlaşmıştır. Buna rağmen cerrahide laparoskopik yöntem videolaparoskopinin 1980'lerdeki gelişimini beklemiştir.

1987' de ilk laparoskopik kolesistektomiyi konvansiyonel endoskop ile gerçekleştiren Mouret, yirmi yıllık laparaskopi deneyimine rağmen, operasyonu bir daha yapmamak üzere bitirmiştir. Buna karşılık Francois Dubois sisteme video projeksiyonu yerleştirmiş ve laparoskopik kolesistektominin popülerize olmasını sağlamıştır. 1990'lardaki çıkış gibi gelişmeyle bugün gelinen noktada birçok laparoskopik operasyon rutine girmiştir ve çeşitli abdominal operasyonların laparoskopik yöntemle gerçekleştirilmesi yöntemle gerçekleştirilmesi konusunda çalışmalar devam etmektedir⁽¹⁰⁾.

Laparoskopik girişimlerde gerekli boş alanın yaratılması için pneumoperitoneum oluşturulması en sık uygulanan işlemdir. Bu iş için yanıcı olmaması, solübilitesinin yüksek olması ve ucuzluğu nedeniyle karbondioksit tercih edilir⁽¹¹⁾. Periton boşluğuna atravmatik uçlu veress iğnesiyle girilip insuflatöre bağlanır. Insuflatör periton boşluğunda istenilen basıncın, istenilen debiyle gerçekleştirilmesini ve stabil tutulmasını sağlayan cihazdır. Optimal intraabdominal basıncın 10 – 15 mmHg'dır. Bununla birlikte bu aralıkta hafif ve 20 mmHg' nin üstünde belirgin olarak FRC (Fonksiyonel Rezidüel Kapasite) düşmekte, PaO₂ (Parsiyel oksijen basıncı) azalmakta, PCO₂ (Parsiyel karbondioksit basıncı) ve ETCO₂ (End tidal CO₂) yükselmekte ve pH düşmektedir. Bu değişikliklerden öncelikle

peritondan CO₂ emilimi ve ayrıca intraabdominal basınç artımı sorumludur. Sağlıklı bireylerde tampon sistemleriyle dengelenen bu olumsuzluklar rezervleri azalmış hastalarda (Septik hastalar, KOAH' lılar, kardiyak out-put'u düşük olanlar vb.) ciddi hiperkarbi ve asidoza neden olmaktadır. Bu zaten bozuk olan kardiyovasküler durumu daha da kötüleştirir ^(11,12). Kardiyopulmoner hastalığı olanlarda CO₂ yerine kullanılabilecek gaz arayışlarına gidilmiş ve helyum düşünülmüştür. Helyum fiziksel ve biyolojik olarak inert bir gazdır. Kardiyopulmoner sorunları olan hastalarda asidoz, kardiyak out-put' da düşüş, sistemik vasküler dirençte artış gibi sorunlara daha az neden olmaktadır. Buna karşın gaz, embolizasyon riskini artırır ve laparoskopik karaciğer rezeksiyonu gibi operasyonlarda kullanılmamalıdır ⁽¹³⁾.

PERİTON VE PERİTONEAL SAVUNMA MEKANİZMALARI

Periton, batın iç duvarlarını ve batın içi organların dış yüzeylerini örten, düzgün yüzeyli, saydam seröz bir membrandır. Batın duvarlarını ve pelvisi döşeyen kısmı pariyetal periton, batın organlarının serozalarını ve mezenterik yapıları kaplayan kısmı visseral periton olarak adlandırılır. Pariyetal ve visseral periton yaprakları arasında periton boşluğu yer alır. Periton, altındaki subseröz bağ dokusundan bir bazal membran ile ayrılmış tek katlı yassı mezotelyal hücrelerden oluşur. Yüzeyi yaklaşık olarak vücut yüzeyi kadardır (yetişkinde 1,7 m²). Periton zarının büyük bölümü su ve tuzların her iki yönde diffüzyonuna olanak sağlayan yarı geçirgen bir membran gibi davranır. Kan dolaşımının farklılıklar göstermesi nedeniyle fonksiyonel yüzeyi anatomik yüzeyinden daha küçük olarak hesaplanır (yetişkinde 1 m²) ⁽¹⁴⁾. Sıvı değişimine zıt olarak partiküllerin emilimi peritonun diafragmatik yüzeyinden gerçekleşmektedir. Mezotel hücreleri arasında bulunan gözenekler partiküllerin pencereci bazal membran altında bulunan, lakunalar olarak adlandırılan, özelleşmiş lenfatik damarlara doğru ilerlemesine olanak sağlar. Elastik olan bu gözeneklerin çapları 8-12 mikron kadardır. Bakteriler dahil olmak üzere çapları 10 mikrondan küçük partiküller buralardan kolayca absorbe edilebilirler. Ekspiryum sırasında diafragmanın pasif olarak yukarı çıkması materyalin lakunalar içinde hızla ilerlemesini sağlarken, inspiyum sırasında diafragmanın kontraksiyonu lakunaların hacmini azaltarak materyalin diafragmatik lenfatiklere doğru akımını azaltır. Ters yöndeki akım lenf

damarlarının kapakçık yapıları sayesinde engellenmektedir. Drenaj Ductus Thorasicus'a olmaktadır^(15,16)

Periton boşluğu, batin içi organların birbirlerinin ve pariyetal peritonun üzerinde serbestçe kayabilmelerini sağlayan, 50-100 cm³ kadar sarı, berrak bir sıvı içerir. Bu sıvının özgül ağırlığı 1016 ve protein içeriği büyük bölümü albumin olmak üzere 3 gr/dl kadardır. Kompleman, lizozim gibi antimikrobiyal maddeler içerir. Milimetreküpünde 3000' den az hücre bulunur. Bunların % 50' sini lenfositler, % 40' ını makrofajlar, % 10' unu eozinofiller, nötrofiller, mast hücreleri ve mezotelyal hücreler oluşturur⁽¹⁷⁾.

Omentumun batin içi oluşumlar arasında özel bir yeri vardır. Pasif hareket yeteneğiyle ve adhezif, hemostaz sağlayıcı, yabancı cisim enkapsülasyonu yapıcı özellikleri ile, omentum abdomenin polisi olarak adlandırılmıştır. Peritoneal lenfoid bir organ olduğu düşünülen Milky Spot' un keşfi omentumun peritoneal savunma sistemlerindeki yerini daha da önemli kılmıştır. Omental mezotel içinde çapları 1-10 mikron arasında değişen açıklıklar vardır. Bunlar glomus benzeri vasküler yapıların merkezlerine ulaşırlar. Milky Spot adı verilen bu yapıların içlerinde stroma hücreleri, makrofajlar, lenfositler ve dendritik hücreler yer alırlar. Komşu damarlarla direkt ilişkili olan bu yapılardan omentumda 6-30 adet bulunur. Peritoneal uyarıdan sonra sayıları yaklaşık 100' e kadar çıkar ve hızla büyürler. Milky Spotların mononükleer fagositik sistem hücrelerinin proliferasyonu için iyi bir mikro çevre oldukları söylenmiştir. Peritoneal makrofajların klasik olarak kabul edildiği gibi kemik iliği kökenli olmayıp omental Milky Spotlarından köken aldığını savunan çalışmalar vardır⁽¹⁸⁾. Milky Spotlardaki; *stromal hücrelerden salınan koloni stimüle edici faktör 1* in (CSF-1) peritoneal makrofajların oluşum ve gelişinde gerekli olduğu, omental dendritik hücrelerin fagositoz yapabildiği, B lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşerek antikor yapımında rol aldığı, makrofajların peritona PMNL (polimorfo nükleer lökosit) kabul ettikleri bildirilmiştir. Peritoneal klirenste diafragmatik lenfatiklerin yanında Milky Spotlarında küçük bir rol oynadığı düşünülmektedir. Omentektomi yapılan peritoneal kemotaktik aktivitenin düşmesi ve peritoneal makrofaj sayısında belirgin azalma olması omentumun peritoneal savunma mekanizmaları içindeki önemini göstermektedir^(18,19)

Intraperitoneal fagositik sistemi erken dönemde makrofajlar temsil ederler. Endotoksinlerin ve kompleman parçacıklarının etkileriyle aktive olan bir makrofaj 50 kadar bakteriyi fagosite edebilir. İnokülasyondan 1-2 saat sonra başlayacak olan PMNL göçüne kadar fagositozdan makrofajlar sorumludurlar. Ayrıca üretilen salgıladıkları çeşitli mediyatörler ile peritona PMNL göçünün organizasyonunu da sağlarlar ^(16,19)

SİTOKİNLER

Sitokinler, doku iyileşmesinde ve mikrobiyal invazyonlara karşı oluşan immün cevapta gereklidir. Hasara uğramış hücreler ve sistemik immün hücreler tarafından üretilirler. TNF- α , İL-1, İL-2, İL-4, İL-6, İL-8, İL-10, İL-12, İL-13 vb. başlıca bilinen sitokinler olup, tanımlanan sitokin sayısı yaklaşık olarak 30'a ulaşmıştır ⁽⁹⁾.

Sitokinler; etkilerini çok küçük konsantrasyonlarda dahi gösterebilen küçük polipeptid veya glikoprotein yapısındaki moleküllerdir. Monomerik formları genellikle 30 kilodaltondan (kDa) küçüktür. Sitokinlerin bir kısmının biyolojik olarak aktif formları, yüksek moleküler ağırlıklı oligomer olarak fonksiyon görürler.

Sitokinlerin hormonlardan farklı yönleri, şekillenmiş moleküller olarak depolanmayıp, doku hasarından hemen sonra hızla ortaya çıkarak organizmada hemodinamik, metabolik ve immünolojik değişiklikler meydana getirmeleridir. Bu hızlı çıkış, hasara uğramış hücrelerden translokasyon ve aktif gen transkripsiyonu sonucu olmaktadır ⁽²⁰⁾.

Sitokinler, spesifik hücre reseptörlerine bağlanarak ve gen transkripsiyonunu düzenleyen intrasellüler yolları aktive ederek etkilerini gösterirler. Bu mekanizma ile immün sistemde rol alan hücrelerin üretimini, diferansiasyonunu, proliferasyonunu ve sağ kalımlarını etkilemektedirler. Ayrıca proinflamatuvar ve antiinflamatuvar özellikleriyle diğer sitokinlerin üretimini ve aksiyonlarını da düzenleyebilirler. Sitokinler farklı hücreleri aktive edebilecekleri gibi, aynı hücreleri aktive ederek farklı cevaplar oluşturabilme yeteneğine sahiptirler.

Sitokinler, enfeksiyona (bakteriyel, viral, fungal) ve doku hasarına bağlı meydana gelen ateş, lökositoz, solunum sayısı ve kalp ritmindeki değişikliklerle

kendini gösteren inflamatuvar cevabı kontrol eden, aktif olarak yara iyileşmesinde görev alan moleküllerdir. Proinflamatuvar sitokinlerin aşırı salınışı, septik şokun hemodinamik değişikliklerine yol açar. Bunların kronik ve aşırı salınması, halsizliğe, kas zayıflığına, kaşeksiye, metabolik düzensizliklere, multipl organ yetmezliğine ve geç mortalitelerin oluşmasına neden olmaktadır. Buna karşılık antiinflamatuvar sitokinlerin etkilerini azaltarak ve hastanın immünitesini güçlendirerek hastalıklara karşı direncin artmasını sağlamaktadır (9,20).

İnflamatuvar sitokinler, vasküler endotelial hücreler üzerindeki hücre adezyon moleküllerini indükleyerek lökosit adezyonuna ve kapiller permeabiliteyi artırarak ekstrasvazasyona yol açabilirler. Bu sitokinlerin serum seviyelerinin yüksekliği salgılanma oranlarıyla ilişkilidir (21).

TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR -ALFA (TNF- α)

TNF' nin orijinal tanımı in vivo ve in vitro tümör nekrozundan sorumlu faktör olarak yapılmıştı. Aynı dönemde enfeksiyona bağlı kaşeksiyi inceleyen araştırmacılarca kaşektin izole edildi. Bunların cDNA klonlaması ve aminoasit sırası 17 kDa' lık bir proteini işaret etti. Daha sonra yapılan çalışmalar bu proteinin yapısını inceledi, TNF ile aynı biyolojik aktiviteye sahip olduğunu ve lenfotoksin ile ortak bir reseptörü paylaştığını tespit ettiler. Kaşektin/TNF makrofaj kökenlidir ve TNF- α olarak isimlendirilmiştir. Lenfotoksin, T hücresi kaynaklıdır ve TNF- β olarak bilinmektedir. İnflamasyonda her ikisi de önemli olmakla beraber esas olan TNF- α ' dır (22).

Doku hasarı ve enfeksiyon yapan ajanlara karşı oluşan inflamatuvar cevap, proinflamatuvar sitokinlerde kompleks bir şelaleyi aktive eder. Bu proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , en erken aktive olan ve konakçı cevabını en güçlü etkileyen mediatörlerden birisi kabul edilmiştir.

TNF- α ; monosit / makrofajlar, mikroglial hücreler, Kupffer hücreleri ve lenfositlerce sentez edilir. Sentezi endotoksin, toksik şok protein 1, mikobakteriyel protein, fungal antijenler, virüsler ve komplement komponent C5a gibi bakteriyel ürünlerle başlatılır. Bu durum bu sitokinin enfeksiyon ve inflamasyondaki önemini göstermektedir. Ayrıca TNF- α diğer sitokinler ve hormonlarla da etkileşim içindedir.

Interleukin-1 (IL-1), TNF- α sentezini aktive ederken, deksametazon ise inhibe eder. TNF- α , H₂ O₂ üretimini ve lökosit adezyonunu önleyen genel bir antiinflamatuvar sitokin olan transforming growth faktör beta'nın (TGF- β) sentezini başlatmaktadır (22).

TNF- α , birçok hücrenin membran reseptörüne bağlanarak etkisini meydana getirir. TNF- α ' nın en önemli özelliklerden biri de interferon gama (IFN- γ) ile sinerjizm gösterdiğinde kuvvetli sitolitik ve sitostatik etki göstermesidir. Bu kombinasyon transforme hücreler, epitelyal ve endotelyal hücreler için sitotoksiktir. Ayrıca TNF- α viral enfekte hücreler içinde sitotoksik etki göstermektedir (22,23)

Akut doku hasarına cevapta TNF- α salınışı hızlı fakat kısa süreli olmaktadır. Yapılan deneysel çalışmalarda, endotoksin ile uyarı sonucu akut inflamatuvar cevapta, TNF- α ' nın kısa süreli salgılanmasının bile belirgin metabolik ve hemodinamik değişikliklere yol açtığı, sitokin şelalesindeki diğer sitokinleri aktive ettiği gösterilmiştir.

TNF- α ' nın üretimini ve aktivasyonunu antagonize eden çeşitli doğal mekanizmalar organizmada mevcuttur. TNF- α , aynı zamanda stres ile oluşan kas katabolizması ve kaşeksi ile ilgili majör bir sitokindir. TNF- α , aminoasitlerin iskelet kaslarından mobilize olup yakıt substratları olarak hepatik sirkülasyona katılmalarını sağlar, ayrıca genetik aktivasyon ile proteolitik yol üzerinden kas katabolizmasını artırıcı etki gösterir.

TNF- α , diğer sitokinlerin varlığında farklı fonksiyonlar gösterebilir. Diğer sitokinlerden farklı olarak, TNF- α ' nın in vivo eklenmesi hızlı fizyolojik değişikliklere neden olmaktadır. Yüksek dozlarda TNF- α , endotoksik şoku taklit eden doku hasarı ve metabolik değişikliklere neden olur. Artmış endotelyal prokoagulan aktivite, intravasküler koagülasyona ve kapiller trombozise neden olur. Lökosit adheransını, serbest oksijen radikalleri ve protoglandinlerin salınımını takip eder. Böylece vasküler hasar ve permeabilite artışı sonucu intravasküler sıvı kaybı ve şok gelişir. TNF- α ' nın kronik olarak verilmesi yağ dokusu ve myozitlerde katabolik değişikliklerin eşlik ettiği kaşeksiye neden olabilir. Lipoprotein lipaz inhibe olur, lipoliz ve glikojenoliz meydana gelir (24)

TNF- α , IL-1 gibi immün stimülasyonda, lokal inflamatuvar olaylarda , akut faz cevabında ve doku yenilenmesinde görev almaktadır. TNF- α ' nın IL-1 ile benzer fonksiyonları olmasına rağmen, IL-1 'in aksine daha güçlü sitotoksik etkiye sahiptir ⁽²²⁾.

İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda, endotoksin enjeksiyonundan iki saat sonra serumda pik yaparak artan TNF- α konsantrasyonunun, altı saat sonra bazal değere düştüğü gösterilmiştir. Sepsiste, TNF- α genellikle artarak çok yüksek değerlerde ölçülürken; IL-1 ve IFN γ vakaların % 20'sinden azında artmış olarak bulunmuştur. Septik şokta ölçülen TNF- α konsantrasyonu ile mortalite arasında korelasyon kurmak oldukça zordur. Çünkü zararsız olduğu bilinen ve gönüllü insan gruplarına enjekte edilen endotoksin çalışmalarında, TNF- α konsantrasyonu, septik şoktakinden yüksek ölçülmüştür. TNF- α ' nın üretim süresi ve miktarı sonucu etkileyebilir. Ayrıca, dolaşımdaki TNF- α ' nın diğer sitokinlerle ilişkisi olabileceğinden, sepsisteki doku hasarı ve şokun tek mediatörü olarak kabul edilmesi uygun değildir. Özellikle serumda artmış TNF- α ile birlikte IL-1'in bulunması kötü prognoza işaret eder ^(22,23,24,25).

TNF- α ile interleukinler arasında aşağıda belirtilen bazı etkileşimler olur;

- Interleukin -6 (IL-6), IFN γ ' nın inhibe edilmesiyle TNF- α üretiminde bir azalmaya sebep olur. Normalde IFN γ , TNF mRNA'yı artırarak TNF- α üretimini stimüle eder.
- TNF- α ve IL-8 arasında nötrofil aktiviteleri açısından sinerjizm vardır.
- Ratlarda IL-1, TNF- α ' nın ölümcül etkisini artırır.
- TNF- α , diğer hücelere etki yaparak IL-1, IL-6, interleukin-8 (IL-8) ve yine TNF- α salgısının artmasını sağlar ⁽²⁵⁾.

İTERLEUKİN -1

IL-1, antijenik bir uyarı sonrasında T lenfositler, monositler, B lenfositler, keratinositler, Naturel Killer hücreleri, nötrofiller, astrositler, dendritik hücreler ve fibroblastlar tarafından salgılanırlar. IL-1, hemapoetin diye bilinir ve immün sistem hücreleri üzerinde farklı etkiler gösterir.

IL-1 bir proinflamatuvar sitokindir. Biyolojik olarak hiçbir sitokinin olmadığı kadar TNF- α ile ilişkilidir. Yapıları ve reseptörleri çok açık bir şekilde belirlenmiş

olsa bile iki gen tarafından belirlenen iki farklı proteinden oluşur. IL-1 α ve IL-1 β diye adlandırılırlar ve polipeptid 159 ve 153 uzun aminoasitten oluşur. % 22'si aminoasit homolojisinden oluşur ve aynı oranda reseptöre bağlanırlar. IL-1 α asidik şekilde bulunur, IL-1 β ise nötral yapıda bulunur^(26,27)

Hücreler IL-1 α ve IL-1 β genlerini farklı şekillerde bulundururlar. IL-1 α çoğunlukla keratinositler tarafından üretilirken, IL-1 β ise baskın olarak monositler tarafından üretilir⁽²⁶⁾

IL-1, makrofajların TNF- α , LPS veya IL-1 kendini stimüle edip CD4+ hücreleriyle ilişkiye girmesiyle üretilir. IL-1 β içinde lenfosit aktivasyonu ve makrofaj stimülasyonun bulunduğu bir dizi farklı biyolojik aktiviteleri yaparlar. IL-1 β 'in aktivitesi IL-6 tarafından artırılır ve bu iki sitokin arasında sinerjizm vardır. Baskın olarak IL-1 β oluşur ve çoğunlukla sirkülasyon halindedir, IL-1 α ise çoğunlukla hücre zarının yapısındadır. IL-1 α , IL-1 β ve TNF- α hipotalamus üzerinde etkin olan endojen pirojenlerdir. IL-1, karaciğer hepatositlerine etkiyerek akut faz proteinlerinin üretimini azaltırlar. Makrofajlar tarafından üretilen IL-1, leukotrienler tarafından artırılır fakat prostoglandinler tarafından azaltılırlar^(26,27)

IL-1 β 'nin menstruasyonun luteal fazında, eksersizlerde, kemik hastalıklarında, inflamatuvar hastalıklarda ve malignensilerde arttığı gözlenmiştir. IL-1 ve TNF- α etkileri birbirine benzemelerine rağmen bazı farklar vardır. Örneğin IL-1 doku zararı yapmaz ve yine çok yüksek dozlardaki IL-1 letal değildir. Ayrıca IL-1, TNF- α gibi MHC molekül yapımını artırmaz⁽²⁷⁾

İNERLEUKİN – 6

21 ile 28 kDa arasında glikosilasyon derecesine göre varyasyonlar gösteren glikoproteinlerdir. IL-6 geni 7 no' lu insan kromozomlarında saklıdır. Makrofaj, endotel, fibroblast, T ve B lenfositler gibi birçok hücreden salgılanır. Serumda IL-1 ve TNF- α tepki olarak ortaya çıkar ve vasküler trombozise neden olmaz. IL-6, pleotropik işlevlere sahiptir. IL-1'in mitojenik etkisini artırır, yardımcı T lenfositler üzerindeki TNF- α 'nın yeterliliğini artırır⁽²⁸⁾. Aynı zamanda kaşeksiye neden olan TNF- α 'yı artırır ve karaciğer hepatositlerinden akut faz proteinlerinin

sentezlenmesini sağlar. IL-6 aynı zamanda Naturel Killer hücrelerini aktive eder ancak LAK oluşumunu sağlamaz ^(27,28). Kan nakli, cerrahi travmanın arttırdığı IL-6 seviyesinde azalma meydana getirir, bu ilişki zayıf ama anlamlıdır ⁽²⁾.

IL-6; bakteriyel ve viral enfeksiyonlarda, otoimmün hastalıklarda, malignensilerde, alkolik karaciğer hastalığında ve transplant rejeksiyonlarında yükseldiği görülmüştür ^(27,28).

İNTERLEUKİN – 8

Molekül ağırlığı 8 kDa olan ve glikosilasyon göstermeyen bir sitokin türüdür. IL-8'in ilk araştırmalarda sadece monositler tarafından üretildiği sanılmıştır ancak endotel hücreleri, epitel hücreleri, hepatositler ve fibroblastlardan da üretildiği gösterilmiştir. Geniş bir uyarıcı dizisi LPS, IL-1, TNF- α , virüsler, üre kristalleri IL-8'in üretimini artırır ⁽²⁹⁾.

IL-8, nötrofillere karşı kemotaktik aktiviteye sahip olmasına rağmen önceleri Nötrofil Aktivating Protein-1 (NAP-1) veya Nötrofil Aktivating Faktör (NAF) diye adlandırılıyordu. IL-8'in nötrofil kemotaktik aktivitesini artırmasından başka aynı zamanda lizozomal enzimlerin nötrofiller tarafından serbest hale dönüştürülmelerinden sorumlu tutulurlar. IL-8 hedef hücelere spesifik reseptörlerle bağlanırlar. Şimdiye kadar IL-1 ve TNF- α tarafından uyartıldığı sanılan nötrofil aktivasyonu, IL-1 ve TNF- α salgısı ile uyartılan IL-8 faktörüne bağlı bir olaydır ^(27,29).

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma için Sprague – Dawley cinsi erişkin, 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Deneklerin ağırlıkları 250 – 350 gr arasında değişmekteydi. Bu çalışma için ‘yerel etik komite’ onayı alındı. Çalışma Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Araştırma Laboratuvarı (DÜSAM) ve Dicle Üniversitesi Tıp Fakóltesi Biyokimya A.D. Laboratuvarı imkanlarıyla gerçekleştirildi.

Tüm sıçanlar çalışma öncesi ve çalışma boyunca oda ısısında (24 C°) barındırıldı ve normal su ve besinle beslendiler. Elli adet sıçan 3 gruba ayrıldı (n= 10). Sıçanlara 100 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul) intramüsküler olarak anestezi uygulandı. Batın traşından sonra %10 Povidon İyot (Betadin ®, Kansuk, İstanbul) ile antisepsiyi takiben cerrahi prosedüre geçildi (Resim 1).



Resim 1: Batın traşı ve dezenfeksiyonu

Grup 1: Bu sıçanlar kontrol grubunu oluşturdu. Ketamin anestezisinden 1 saat sonra sıçanların kuyruk bölgeleri %10 Povidon İyot ile silinerek, kuyruk venlerinden steril insülin enjektörü (Mikro-set 5®, Tıpset ,İstanbul) ile 1cc kan alındı.

Grup 2: Bu gruptaki sıçanlara, 2 cm 'lik median insizyondan sonra batın bir saat boyunca açık bırakıldı. Birinci saatten sonra Vena Cava İnférieur 'dan steril insülin enjektörü (Mikro-set 5®, Tıpset ,İstanbul) ile 1cc kan alındı. Sıçanların kuyruk bölgeleri 24. saatte ve 72. saat sonunda %10 Povidon İyot ile silinerek, kuyruk venlerinden steril insülin enjektörü (Mikro-set 5®, Tıpset ,İstanbul) ile 1cc kan alındı (Resim 2).

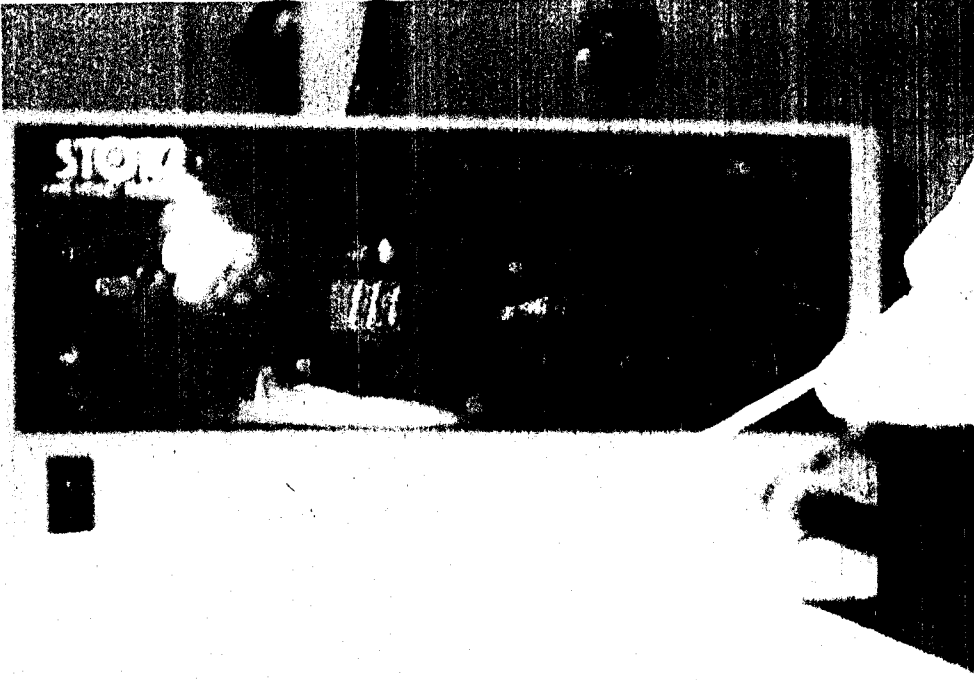


Resim 2: Açık cerrahi uygulanan sıçanların abdominal görüntüsü

Grup 3: Bu gruptaki sıçanlara, karın alt orta kadrandan veress iğnesi (Autosuture® , İstanbul) ile batına girildi. Elektronik CO₂ insuflatörüne (Karl – Storz®, İstanbul) bağlanarak 0,2 lt/dk gidecek şekilde ayarlandı, intraabdominal basınç 10 mmHg 'a getirildi. Birinci saatte pneumoperitoneum sonlandırıldı. Sıçanların kuyruk bölgeleri 1. saat, 24. saat ve 72. saat sonunda % 10 Povidon İyot ile silinerek, kuyruk venlerinden steril insülin enjektörü (Mikro-set 5®, Tıpset ,İstanbul) ile 1cc kan alındı (Resim 3,4).



Resim 3: Batına veress iğnesi ile CO₂ verilmesi



2003/05/16

Resim 4: Pneumoperitoneum oluşturulması

Böylece grup 2' deki sıçanlara 1 saat süre ile laparotomi uygulandı. Grup 3' teki sıçanlara ise 1 saat süre ile pneumoperitoneum uygulandı. Bu işlemler sonrası 1., 24., 72. saatlerde alınan kan örnekleri biyokimya laboratuvarında, Heraeus RPM 1000 cihazı 5000 devirde 4 dakika süre ile santrifüj edilerek serum haline getirildi. Serum TNF- α , IL -1 β , IL -6 ve IL -8 değerlerini ölçmek için chemiluminescent enzyme immunoassay yöntemi ile ölçümü yapan, immulite otomatik analizör kullanıldı (IMMULITE®, EURO/DPC Ltd, United Kingdom).

İstatistiksel analizler, SPSS 11.0 bilgisayar programında yapıldı. Serum TNF- α , IL -1 β , IL -6 ve IL -8 değerleri için parametrik tek yönlü varyans analizi (One Way - ANOVA) ve çoklu kıyaslamalar için post hoc testleri uygulandı. Grup ortalamalarının varyans analizleri homojen olanlara Tukey HSD testi, homojen olmayanlara ise Tamhane testi uygulandı.

BULGULAR

Deney süresince tüm sıçanlar girişimi tolere etti, hiçbir sıçan öngörülen süre içinde kaybedilmedi ve çalışma dışı bırakılmadı. Yaptığımız çalışmada grupların TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 değişkenlerinin 1., 24. ve 72. saat medyan ve standart sapma değerleri sırası ile Tablo 1,2,3,4'te gösterilmiştir.

Gruplar	Mediyan Değer ve Standard Sapma		
	1. saat	24.saat	72.saat
Grup 1 (n=10)	0,65 \pm 0,97	0,65 \pm 0,97	0,65 \pm 0,97
Grup 2 (n=10)	5,61 \pm 0,38	4,61 \pm 0,31	3,45 \pm 0,36
Grup 3 (n=10)	3,60 \pm 0,11	3,78 \pm 0,16	3,29 \pm 0,19
Toplam (n=30)	3,28 \pm 2,08	3,01 \pm 1,74	2,46 \pm 1,32

Tablo 1: TNF- α değişkeninin 1., 24. ve 72. saat medyan ve standart sapma değerleri (pg/ml)

Gruplar	Mediyan Değer ve Standard Sapma		
	1. saat	24.saat	72.saat
Grup 1 (n=10)	0,17 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02
Grup 2 (n=10)	14,83 \pm 1,14	1,37 \pm 0,77	0,23 \pm 0,04
Grup 3 (n=10)	0,54 \pm 0,07	1,56 \pm 0,12	0,20 \pm 0,02
Toplam (n=30)	5,18 \pm 6,96	1,03 \pm 0,62	0,20 \pm 0,42

Tablo 2: IL-1 β değişkeninin 1., 24. ve 72. saat medyan ve standart sapma değerleri (pg/ml)

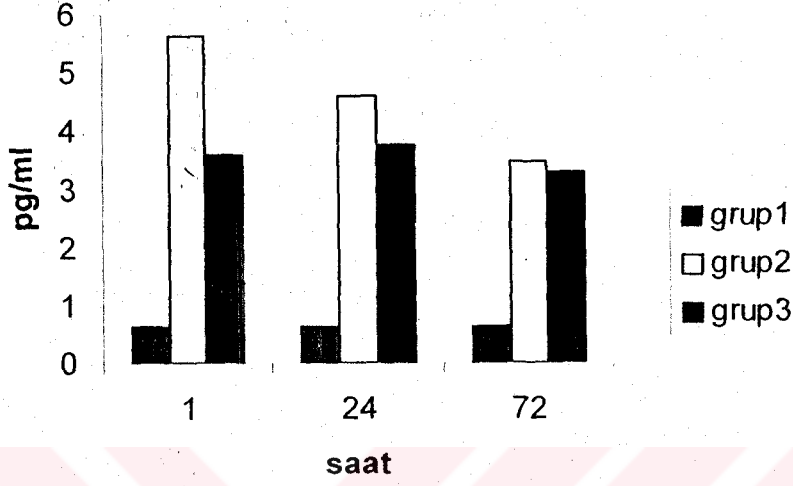
Gruplar	Mediyan Değer ve Standard Sapma		
	1. saat	24.saat	72.saat
Grup 1 (n=10)	7,15 ± 0,43	7,15 ± 0,43	7,15 ± 0,43
Grup 2 (n=10)	12,64 ± 1,85	28,35 ± 4,16	12,42 ± 2,44
Grup 3 (n=10)	8,33 ± 0,74	6,57 ± 0,74	6,43 ± 0,70
Toplam (n=30)	9,37 ± 2,65	14,02 ± 10,57	8,66 ± 3,07

Tablo 3: İL-6 değişkeninin 1., 24. ve 72. saat medyan ve standart sapma değerleri (pg/ml)

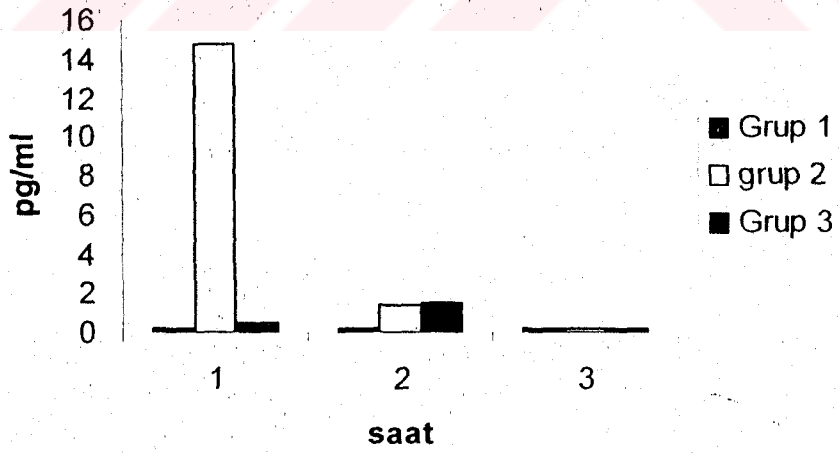
Gruplar	Mediyan Değer ve Standard Sapma		
	1. saat	24.saat	72.saat
Grup 1 (n=10)	5,78 ± 0,48	5,78 ± 0,48	5,78 ± 0,48
Grup 2 (n=10)	19,76 ± 1,99	24,07 ± 1,17	15,57 ± 1,07
Grup 3 (n=10)	7,70 ± 0,71	9,00 ± 0,82	6,40 ± 0,44
Toplam (n=30)	11,08 ± 6,40	12,95 ± 8,15	9,25 ± 4,60

Tablo 4: İL-8 değişkeninin 1., 24. ve 72. saat medyan ve standart sapma değerleri (pg/ml)

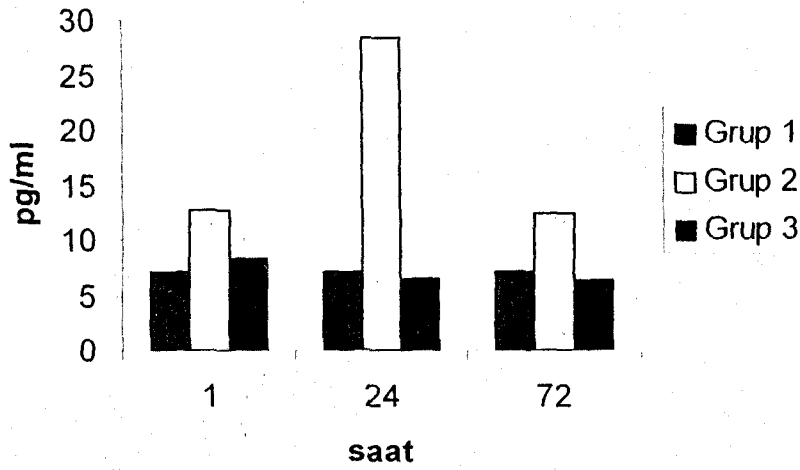
Grupların 1. saat, 24. saat, 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki serum TNF - α , IL - 1 β , IL - 6 ve IL - 8 değişkenlerinin değerleri grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (One-Way ANOVA , 1. saat P< 0.001, 24. saat P< 0.001, 72. saat P< 0.001) (Grafik 1,2,3,4).



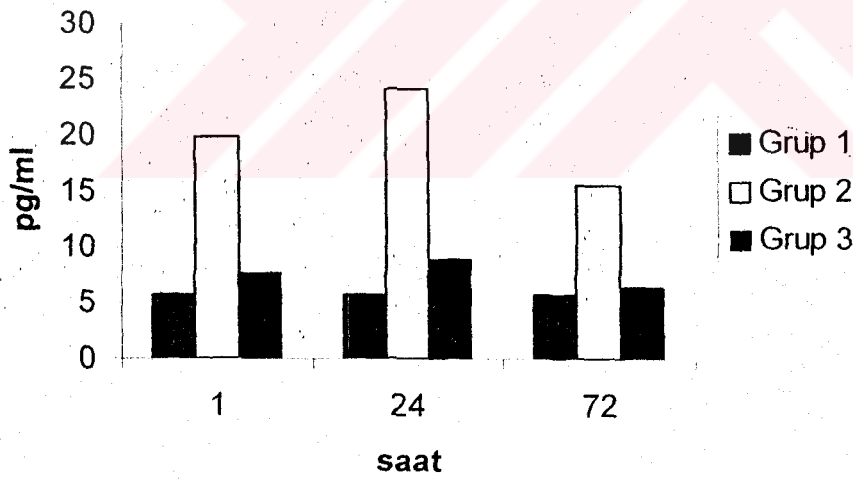
Grafik1 : Serum TNF - α değerlerinin saatlere göre değişimi



Grafik2: Serum İL-1 β değerlerinin saatlere göre değişimi



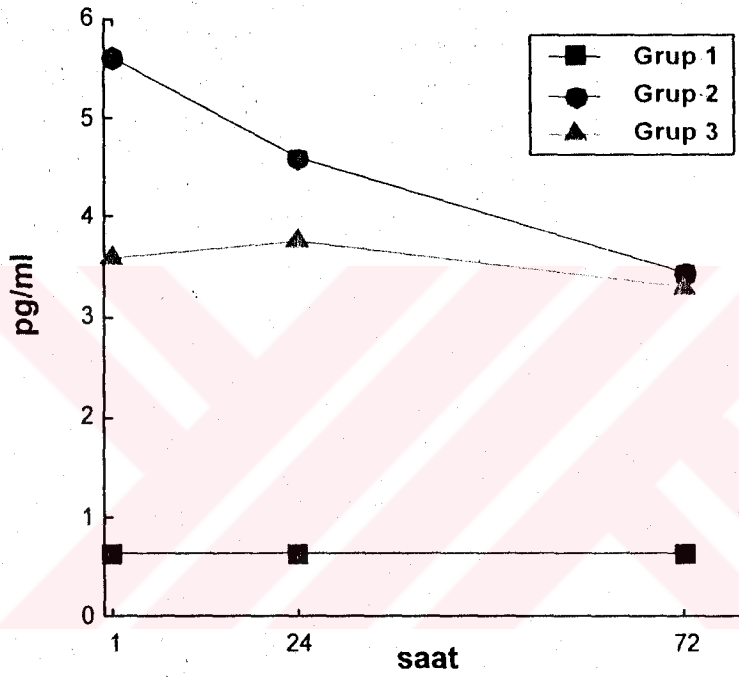
Grafik3: Serum İL-6 değerlerinin saatlere göre değişimi



Grafik 4: Serum İL-8 değerlerinin saatlere göre değişimi

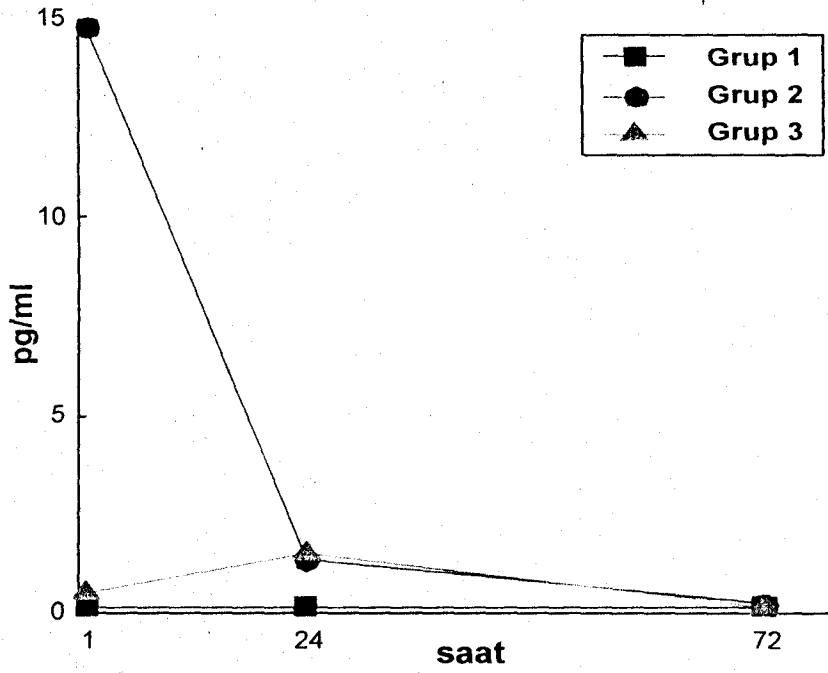
Serum TNF- α 'nın 1. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup 1 ortalama değeri, grup 2 ve 3 ortalama değerlerinden istatistiksel olarak farklıydı (Tamhane testi, $p < 0.05$). TNF- α , grup ortalama değerleri açısından grup 2, grup 1 ve grup 3'ten aynı zamanda grup 3, grup 1 ve grup 2'den istatistiksel olarak anlamlı olarak farklıydı (Tamhane testi, $p < 0.05$).

Serum TNF- α 'nın 24. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup 1 ortalama değeri, grup 2 ve 3 ortalama düzeylerinden, grup 2 ortalama değeri, grup 1 ve grup 3 ortalama düzeylerinden ve grup 3 ortalama değeri, grup 1 ve grup 2 ortalama düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı olarak farklıydı (Tamhane testi, $p < 0.05$). Serum TNF- α 'nın 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup 1 ortalama değeri, grup 2 ve 3 ortalama düzeylerinden istatistiksel olarak fark bulundu (Tamhane testi, $p < 0.05$). Buna rağmen grup 2 ile grup 3 ortalama değeri arasında istatistiksel fark saptanmadı (Grafik 5).



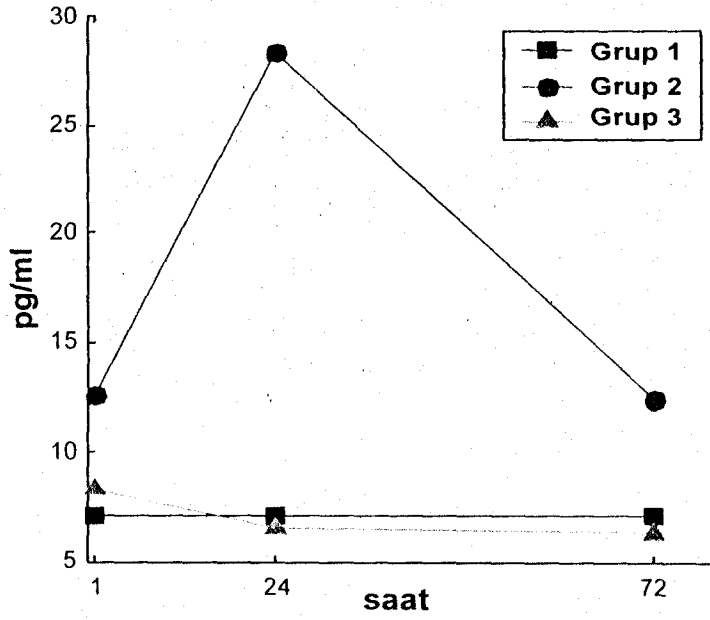
Grafik 5: Serum TNF- α değerlerinin gruplara göre dağılımı

Serum İL-1 β 'nın 1. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup 1 ortalama değeri, grup 2 ve 3 ortalama düzeylerinden, grup 2 ortalama değeri, grup 1 ve grup 3 ortalama düzeylerinden ve grup 3 ortalama değeri, grup 1 ve grup 2 ortalama düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı olarak farklı bulundu (Tamhane testi, $p < 0.05$). Serum İL-1 β 'nın 24. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup 1 ortalama değeri, grup 2 ve 3 ortalama düzeylerinden farklı olduğu (Tamhane testi, $p < 0.05$) ancak grup 2 ve 3 arasında ise fark olmadığı görüldü (Tamhane testi, $p > 0.05$). Serum İL-1 β 'nın 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup ortalama düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark yoktu (Grafik 6).



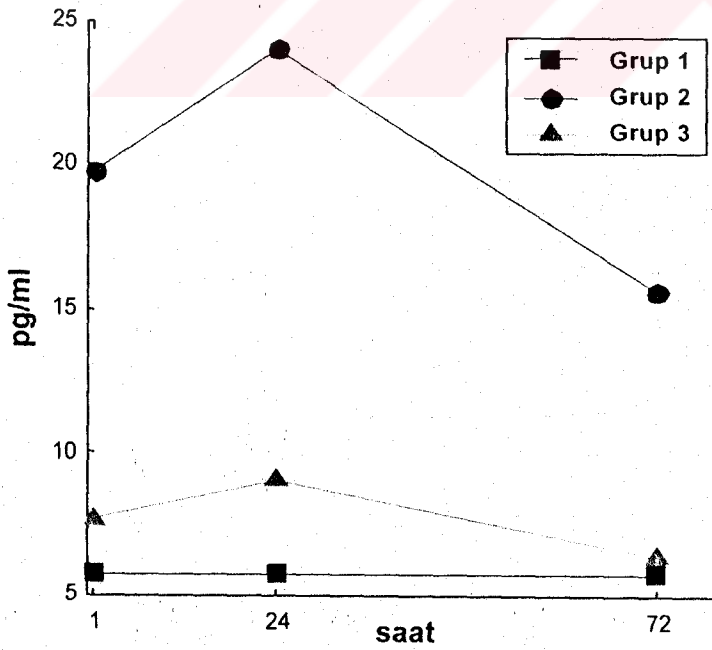
Grafik 6 : Serum İL-1 β değerlerinin gruplara göre dağılımı

Serum İL-6'nın, 1. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup 2 ortalama değeri, grup 1 ve 3 ortalama düzeylerinden istatistiksel olarak farklıydı (Tukey HSD testi, $p < 0.05$). Serum İL-6'nın, 24. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup 1 ortalama değeri, grup 2 ortalama değerinden istatistiksel olarak farklı olmasına rağmen grup 1 ortalama değeri ile grup 3 ortalama değeri arasında istatistiksel olarak fark yoktu (Tamhane testi, $p < 0.05$). Serum İL-6'nın, 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup 1 ve 3 ortalama değerleri arasında fark olmadığı (Tamhane testi, $p > 0.05$) ancak grup 2 ortalama değerlerinin grup 1 ve 3 ortalama değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak farklı olduğu görüldü (Tamhane testi, $p < 0.05$)(Grafik 7).



Grafik 7: Serum İL-6 değerlerinin gruplara göre dağılımı

Serum İL-8'in 1., 24. ve 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki grup 1 ortalama değeri, grup 2 ve 3 ortalama düzeylerinden, grup 2 ortalama değeri, grup 1 ve 3 ortalama düzeylerinden ve grup 3 ortalama değeri, grup 1 ve 2 ortalama düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı olarak farklı idi (Tamhane testi, $p < 0.05$)(Grafik 8).



Grafik 8: Serum İL-8 değerlerinin gruplara göre dağılımı

Grup 2'nin 1., 24. ve 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki serum TNF- α , IL-1 β , ve IL-8 ortalama düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark vardı (One-Way ANOVA, $P < 0.001$). Serum TNF- α 1., 24. ve 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki, IL-8'in (Tukey HSD testi, $p < 0.05$) ve IL-1 β 'in (Tamhane testi, $p < 0.05$) ortalama düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Grup 2'de serum IL-6'nın 1. saat sonunda alınan ortalama değeri ile 24. saat sonunda alınan ortalama değeri arasında ve 24 saat sonunda alınan serum ortalama değeri ile 72 saat sonunda alınan serum ortalama değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (Tamhane testi, $p < 0.05$). Buna rağmen Grup 2'de IL-6'nın 1. saat sonunda alınan serum ortalama değeri ile 72. saat sonunda alınan serum ortalama değeri arasında istatistiksel olarak fark yoktu.

Grup 3'ün 1., 24. ve 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki serum IL-6 ve IL-8 ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak fark vardı (One-Way ANOVA, $P < 0.001$). Grup 3'te, 1. ve 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki serum TNF- α ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak fark olmamasına rağmen 1. saat ve 72. saat ortalama değerleri ile 24. saat ortalama değerleri arasında istatistiksel fark olduğu gözlemlendi (Tamhane testi, $p < 0.05$). Grup 3'te 1. saat sonunda alınan serum IL-1 ortalama değeri, 24. ve 72. saat sonundaki serum ortalama değerlerinden istatistiksel olarak farklıydı (Tamhane testi, $p < 0.05$). Grup 3'te 24. saat ortalama değerleri ile 72. saat ortalama değerleri arasında istatistiksel fark olmadığı görüldü. Grup 3'te 1., 24. ve 72. saat sonunda alınan kan örneklerindeki serum IL-6 ve IL-8'in ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak fark vardı (Tamhane testi, $p < 0.05$).

TARTIŞMA

Cerrahi ve travma genel olarak immün sistemi baskılar. Laparotomi, bir dizi immünolojik bozukluğa yol açar ve operasyon stresinin büyüklüğü, operasyonun travma derecesine bağlıdır⁽³⁰⁾. Majör ameliyatlardan sonra sirkülasyondaki lenfositlerin toplam kan lenfosit sayısı, B - hücresi sayısı, T - hücresi sayısı, mitojenik blastojenik tepki, hem defansif hem de stimülatör lökosit aktivasyonunda geçici bir azalma olduğu bilinmektedir. Bu lenfositlerin stres ve anesteziye kullanılan ilaçlara bağlı olarak azaldığı gösterilmiştir⁽³¹⁾.

Cerrahi sonrası immün sistemdeki hücrelerin sayı ve fonksiyonlarında farklı değişiklikler olmaktadır. Peritoneal makrofajlar, lokal intraabdominal immün tepkinin ilk aşamalarında önemli rol üstlenirler⁽⁷⁾. Muhtemelen abdominal kavitede inflamatuvar stimülusa cevap veren ilk hücrelerdir. Bu hücreler abdominal cerrahinin neden olmuş olduğu lokal yaralanmaya, yabancı döküntülere, nekrotik doku ve bakteriyel kontaminasyona cevap olarak üretilirler. Makrofajlar, birçok immün hücrenin aktivitesini düzenlemeye yardımcı olabilecek olan çeşitli sitokinler salgırlarlar^(3,7,32). Immün sistem hücreleri ve başka dokular tarafından üretilen sitokinler, immün sistemin akut faz tepkilerinde mediyatör olarak görev yaparlar. Her sitokin belirli aralıklarla salgılanır ve etki yapar. TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 akut faz tepkilerinde etkili sitokinlerdir. TNF- α , IL-1 β ve IL-8 akut faz tepkilerini non hepatik şekilde gösterirler. IL-6 ise akut faz tepkilerinin hepatik komponentlerini aktifleyerek gösterirler^(33,34).

Majör cerrahi operasyonların erken döneminde ortaya çıkan TNF- α ve IL-1 β artışını, her zaman IL-6'nın artması takip eder. IL-1 β , sadece periferel plazmada bulunur. IL-6 seviyeleri insizyonu takiben yaklaşık 12-36 saat içinde yükselmiş, bu yükselme komplikasyonlardan önce olmuştur. Bütün bu sitokinler immün sistemi stimüle edebilecek kapasiteye sahiptirler⁽³⁴⁾.

Baigrie ve ark., TNF- α 'nin, endotoksin kontrolünden 90-120 dakika sonra plazmada yükseldiğini, eş zamanlı olarak IL-1 β 'nin de yükseldiğini göstermişlerdir. TNF- α ve IL-1 β 'nin çok küçük orandaki indüksiyonu IL-6'nın plazmada artması için yeterli olduğunu göstermişlerdir. Serumdaki IL-6 değerleri cerrahi müdahale süresiyle korelasyon içindedir^(34, 35). Cerrahi uygulanmış olan dokudan salgılanan IL-6'nın, operasyon süresinin uzamasıyla korele olarak salgılanmasının arttığı gösterilmiştir. Açık cerrahide yaralanma

oranının artması, immün yanıtın şiddetinin arttığını gösterir. Bu çalışma göstermiştir ki, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 tepkileri cerrahi hasarın büyüklüğü oranında yükselir. IL-6 düzeyi majör komplikasyon gelişen hastalarda maksimum düzeydedir^(2,36).

Laparoskopik cerrahi (LC), minimal invaziv bir girişim olup, sistemik immün cevapta anlamlı değişiklik yapmaz. Cerrahiye cevap olarak gelişen sitokin fonksiyonları ve hücrel haberleşme sistemleri ayrıntılı olarak tanımlanmıştır. Sitokin düzeyleri immün cevabı direkt olarak yansıtmazken, sistemik immunitiyi anlamamızda ve immün aktivasyon ile ilgili terimleri belirlememizde yardımcı olurlar. Bu bilgi laparoskopik cerrahinin metabolizma ve immünite üzerindeki etkisinin nasıl olabileceğinin temel yapısını vermektedir⁽³⁷⁾.

Operasyon süresince, atmosferin etkisi, cerrahi manüplasyon ve direkt enstrümantasyon gibi stimülasyonlar, peritonda bir inflamatuvar reaksiyon oluşumuna katkıda bulunur. Bunun aksine LC sırasında, pneumoperitoneum ve laparoskopik aletler abdominal kavitede izole sıcak ve nemli ortamın devamlılığını sağlar. Bunlar peritonu ve iç organları kuruma ve dış ortamdaki gelecek olan injurilere karşı korur. Her iki prosedür arasındaki ana farklılık peritonun stimülasyon derecesi olarak görülebilir. Cerrahi stres ile metabolizma, immünite ve inflamasyonu içeren peritoneal cevapta değişikliklerin olabileceği rapor edilmiştir⁽³⁸⁾.

Veo ve arkadaşları, cerrahi yara bölgesinde üretilen IL-6'nın cerrahi süresince, serum IL-6 seviyesinin artmasından kısmi olarak sorumlu olabileceğini yayımladılar⁽³⁹⁾. Abdominal insizyonlar büyük doku travmasına neden olarak proinflamatuvar sitokinlerin artışına ve postoperatif sistemik inflamasyonun yükselmesine neden olabilir. Sistemik inflamasyon, açık cerrahi prosedürlerde laparoskopik cerrahi prosedürlere nazaran yüksek doku travması nedeni ile anlamlı derecede yüksek bulunmuştur⁽⁴⁰⁾. Yahara ve arkadaşları, serum IL-6 seviyesini LC ve açık cerrahide (AC) karşılaştırmışlar ve AC'de IL-6 seviyesinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır⁽³⁸⁾. Bunun yanı sıra AC'den sonra artan sitokin üretiminin nedeni, yara iyileşme sürecindeki ani hızlanmaya bağlı olabileceği düşünülmektedir⁽³⁷⁾. Cilt insizyon boyutları aynı olmasına rağmen serum IL-6 seviyeleri LC'de AC'ye göre daha düşük olarak bulmuşlar. Bundan dolayı cerrahi sonrası IL-6 seviyesinin majör kaynağı cilde uygulanmış insizyon olmayabilir. Yahara ve arkadaşlarının aynı bir çalışmada ayrıca peritoneal sıvıdaki IL-6 ve IL-8 düzeyleri LC ve AC'de karşılaştırılmış

olup AC grubunda yüksek bulunmuştur ⁽³⁷⁾. Bu veriler peritonun serum IL-6'nın ve IL-8 kaynağı olabileceğini düşündürmektedir. Laparoskopik cerrahi ile açık cerrahi arasındaki insizyon büyüklük farkı yanında özellikle atmosferik çevre gibi diğer major farklılıkların etkisi ile de başta peritoneal makrofajlar olmak üzere immün sistem hücreleri lokal inflamatuvar cevaba neden olabilirler ⁽²⁾.

Abdominal insuflasyonunda kullanılan CO₂, peritoneal inflamatuvar hücrelerde önemli lokal etkilere neden olabilir. Özellikle CO₂ inflamatuvar hücre fonksiyonlarının inhibisyonuna neden olması laparoskopik cerrahinin iyi tolere edildiğini kısmen açıklayabilir ⁽³⁾. Chen ve arkadaşları, laparoskopik cerrahinin fizyolojik stresi az oluşturmasını, CO₂ pneumoperitoneumun asidik çevre oluşturması peritoneal makrofajlardan, sitokin üretiminin azalması nedeniyle olduğunu göstermişlerdir ⁽²⁾. Carozzi ve arkadaşları, pH 5.5 ortamında IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF- α spontan salgılanmasının pH 7.4 ortamında salgılanmasına nazaran çok düşük olduğunu göstermişlerdir ⁽⁴¹⁾. Bu bilgiler ışığında, laparoskopik cerrahi esnasında peritoneal CO₂ insuflasyonunun neden olduğu peritoneal makrofajlardaki hücresel asidifikasyonun lokal inflamatuvar cevabı bozduğunu desteklemektedir.

Jacobi ve arkadaşları, intraabdominal apse oluşturdukları ratlarda LC ve AC uygulayarak postoperatif 1. saatte elde edilen kan kültürlerinde üreyen mikroorganizma sayısının, LC grubunda yüksek fakat sepsise giren denek sayısının LC 'de daha düşük olduğunu göstermişler. Bu bulgunun artan intraabdominal basıncın lenfatik drenajı azaltarak, peritoneal kavitedeki sıvı akışını engellenmesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar laparaskopi sonrasında yüksek bakteriyemi insidansına rağmen sistemik inflamasyonun yavaş bir şekilde arttığını göstermektedir ⁽⁴⁰⁾. Bu bulgularla beraber sekonder peritonitli hastalarda, laparoskopik cerrahi girişimin kullanılması giderek yaygınlaşmaktadır.

Bizim çalışmamızda serum TNF- α değerleri incelendiğinde, 1. saat sonunda kontrol grubuna göre AC ve LC uygulanmış sıçanlarda artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Bununla birlikte AC uygulanmış sıçanlarda, LC uygulanmış sıçanlara göre daha fazla yükseldiği görüldü. Serum TNF- α değerlerinin 24. saatte bu değerlerin, 1. saate göre azaldığı ancak halen kontrol grubuna göre yüksek olduğu görüldü. AC ile LC arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Serum TNF- α değerleri 72. saatte ise LC ve AC uygulanmış grupların halen yüksek olduğu yalnız her iki grup arasındaki farkında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Bu sonuçlar serum TNF- α değerlerinin AC uygulanmış

sıçanlarda, LC uygulanmış sıçanlara göre daha fazla yükseldiğini gösterdi. Bunun yanı sıra çalışmamızın 72. saatinde AC ve LC uygulanmış sıçanlarda normale göre halen yüksek olduğu görüldü.

TNF- α gibi sitokinlerin üretimi, peritoneal makrofajların abdominal kaviteden patojenleri uzaklaştırmalarına yardımcı olurlar. Ancak bu sitokinlerin fazla üretimi zararlı olur, bunlar sitotoksik durumlara yol açarlar. Böylece peritoneal makrofajların sayısı, yaşam kabiliyeti ve aynı zamanda sitokin üretimi kişinin postoperatif dönemde intraperitoneal enfeksiyonları kontrol etme kabiliyetini belirleyebilir ve kişinin operasyon stresinden tamamen kurtulmasına yardımcı olabilir ^(7,42). Watson ve arkadaşları, hava veya CO₂ insuflasyonu ile pneumoperitoneum oluşturarak yaptıkları çalışmada bu iki metot karşılaştırıldığında hava ile yapılan grupta peritoneal dokudaki makrofajların superoksit ve TNF- α 'nın salgılanımının arttığını yayımlamışlardır ⁽⁴³⁾. Redmond ve arkadaşları açık cerrahiye oranla laparoskopik kolesistektomi yapılan hastalarda inflamatuvar hücrelerde TNF- α ve süperoksit anyonların salgılanmasının azaldığını bildirmişler ⁽⁴⁴⁾. Bizim çalışmamızda serum TNF- α değerleri, kontrol grubuna göre LC ve AC grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. Buna karşın LC grubunda çalışmanın erken döneminde belirgin düşük olduğu görüldü. Bu sonuçlar LC 'de serum TNF- α 'nın değerlerinin AC 'ye oranla daha az yükseldiği görüşünü desteklemektedir.

Çalışmamızda serum IL-1 β değerleri 1. saat sonunda LC' de yükselmesine rağmen AC' de LC' ye göre daha fazla yükseldiği görüldü. AC ve LC uygulanmış sıçanların 24. saat değerleri arasında fark olmadığı görüldü. 72. saatte ise serum IL-1 β değerleri arasında kontrol grubu seviyesine düştüğü görüldü. Böylece cerrahinin erken dönemlerinde akut faz reaktanı oluşmasında etkili olan IL-1 β , çalışmamızda da AC' de daha fazla olmak üzere her iki cerrahi grubunda da yükseldiği ve 72. saat sonunda normal değerlere yakın olduğu görüldü.

Serum IL-6 değerlerinin 1., 24. ve 72. saatler sonunda LC uygulanmış sıçanlarda yükselmediği görüldü. AC uygulanan sıçanlarda 1. saat sonunda yükselmiş olduğu, 24. saat sonunda ise en yüksek seviyeye ulaştığı ancak 72. saat sonunda düşmesine rağmen LC' ye göre yüksek olduğu görüldü. IL-6 düzeyi laparaskopi uygulanan hastalarda açık cerrahi uygulananlara oranla daha az olduğu görülmüştür ⁽³⁷⁾. Serum TNF- α ve IL-1 β düzeyinin cerrahinin erken döneminde artması, serum IL-6 salgılanmasını indüklediği bilinmektedir

^(34,35) Çalışmamızda AC grubunda İL-6 düzeyi çalışma süresince yüksek olduğu, LC grubunda ise kontrol grubu değerlerine yakın olduğu görüldü. Serum TNF- α ve İL-1 β düzeyinin LC grubunda, İL-6 salgılanmasını indükleyecek kadar yükselmediği görüşündeyiz.

Çalışmamızda serum İL-8 değerlerini incelediğimizde 1. saat sonunda AC ve LC uygulanmış sıçanlarda artış olduğu görüldü . AC uygulanmış sıçanlarda, LC uygulanmış sıçanlara göre daha fazla yükseldiği görülmüştür. AC ve LC uygulanmış sıçanların 24. saat ve 72. saat serum değerleri, 1. saate göre azalma gösterdiği ancak hala kontrol grubuna göre farklı olduğu gözlemlendi. Yahara ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada AC uygulanan ve LC uygulanan grupta periton tarafından üretilen İL-6, İL-8 ve Granülosit Koloni Stimülör Faktör değerlerinin karşılaştırılmasında, AC grubunda bu değerlerin daha yüksek olduğu gösterilmiştir ⁽³⁸⁾. Çalışmamızda serum İL-8 düzeyi diğer sitokinlerde olduğu gibi AC grubunda daha yüksek olduğu görülmüştür.

Biz inflamatuvar sitokinleri, laparatominin provoke ettiği sonucuna vardık. Bununla beraber, LC prosedürü uygulandığı zaman serum sitokin düzeylerinin karşılaştırılmalı düşüklüğü, cerrahi stresinde karşılaştırmalı düşüklüğünü göstermektedir. Böylece bizim verilerimiz LC 'nin avantajlı olduğunu göstermiştir.

SONUÇ

Cerrahi, genel olarak immün sistemi deprese etmektedir. Cerrahi sonrası immün sistemdeki hücrelerin sayı ve fonksiyonlarında farklı değişiklikler olmaktadır. Immün sistem hücreleri ve başka dokular tarafından üretilen sitokinler, immün sistemin akut faz tepkilerinde mediyatör olarak görev yaparlar. Sitokin düzeyleri immün cevabı direkt olarak yansıtırlar, sistemik immunitiyi anlamamızda ve immün aktivasyon ile ilgili terimleri belirlememizde yardımcı olurlar. Laparatominin peritoneal savunmanın ve sistemik immün yanıtın gerçekleşmesinde önemli rolü olan peritoneal makrofajların fonksiyonlarına olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Laparotomi sonrası erken dönemde peritoneal makrofajların sayısında, görünümünde, fagositik aktivitelerinde ve antijen presentasyon yeteneklerinde düşüş olmaktadır. Laparatomide yaralanma oranının artması, immün yanıtın şiddetinin arttığını gösterir. Böylece cerrahi hasarın büyüklüğü oranında sitokin düzeylerinin yükseldiğini göstermiştir.

Laparoskopik cerrahi, minimal invaziv bir girişim olup, sistemik immün cevapta anlamlı değişiklik yapmaz. Laparoskopik cerrahi vücut dokularına daha az zarar vererek yara iyileşmesi sürecinin getirdiği sorunları azaltılmıştır. Aynı zamanda organizmanın sistemik, metabolik ve inflamatuvar yanıtlarında daha az olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Cerrahi travmanın neden olduğu immün sistemdeki olumsuzlukların laparoskopik cerrahi işlemlerde göz ardı edilebilecek düzeyde azaldığı bildirilmektedir.

Bizim çalışmamızın sonucu olarak laparatominin, serum sitokin düzeylerini belirgin olarak artırdığı görüldü. Bununla beraber, laparoskopik cerrahi prosedürü uygulandığı zaman serum sitokin düzeylerinin karşılaştırılmalı düşüklüğü, operatif stresinde karşılaştırılmalı düşüklüğünü göstermektedir. Böylece bizim verilerimiz laparoskopik cerrahi nin açık cerrahiye göre avantajlı olduğunu göstermiştir.

ÖZET

Cerrahinin hastalarda immündefresyon yaptığı uzun yıllardır bilinmektedir. Bunun için hastanın metabolizma ve immün sistemlerine en düşük oranda zarar verecek cerrahi teknik ve metotlar geliştirilmektedir. Laparoskopik cerrahi metodu son yıllarda çok fazla kullanılmaya başlanmıştır. Laparoskopik cerrahi ile açık cerrahinin immün sisteme olan etkilerini gözlemek için planladığımız bu çalışmada 30 adet 250 – 350 gr ağırlığında Sprague – Dawley cinsi erişkin erkek sıçan kullanıldı. Denekler 10' arlı üç gruba ayrıldı.

Grup 1: Bu sıçanlar kontrol grubunu oluşturdu. Ketamin anestezisinden bir saat sonra sıçanların kuyruk bölgeleri %10 Povidon İyot ile silinerek, kuyruk venlerinden steril insülin enjektörü ile 1cc kan alındı.

Grup 2: Bu gruptaki sıçanlara, batin 2 cm 'lik median insizyondan sonra bir saat boyunca açık bırakıldı. Birinci saatten sonra sıçanların kuyruk bölgeleri %10 Povidon İyot ile silinerek ve kuyruk venlerinden steril insülin enjektörü ile 1cc kan alındı. Sıçanların kuyruk bölgeleri, 24. saat ve 72. saat sonunda %10 Povidon İyot ile silinerek, kuyruk venlerinden steril insülin enjektörü ile 1cc kan alındı (Resim 2).

Grup 3: Bu gruptaki sıçanlara, karın alt orta kadrandan veress iğnesi ile batına girildi. Elektronik CO₂ insuflatörüne bağlanarak 0,2 lt/dk gidecek şekilde ayarlandı, intraabdominal basınç 10 mmHg 'a getirildi. Birinci saatte pneumoperitoneum sonlandırıldı. Sıçanların 1. saat, 24. saat ve 72. saat sonunda kuyruk bölgeleri % 10 Povidon İyot ile silinerek, kuyruk venlerinden steril insülin enjektörü ile 1 cc kan alındı (Resim 3,4).

Grup 2' deki sıçanlara bir saat süre ile laparotomi uygulandı. Grup 3' teki sıçanlara ise bir saat süre ile pneumoperitoneum uygulandı. Bu işlemler sonrası 1., 24., 72. saatlerde alınan kan örnekleri biyokimya laboratuvarında, Heraeus RPM 1000 cihazıyla 5000 devirde 4 dakika süre ile santrifüj edilerek serum haline getirildi. Serum TNF- α , IL -1 β , IL -6 ve IL -8 değerlerini ölçmek için chemiluminescent enzyme immunometric assay yöntemi ile ölçümü yapan, immulite otomatik analizör kullanıldı.

Sonuç olarak laparatominin, serum sitokin düzeylerini belirgin olarak artırdığı görüldü. Bununla beraber, laparoskopik cerrahi prosedürü uygulandığı zaman serum sitokin düzeylerinin karşılaştırılmalı düşüklüğü, operatif stresinde karşılaştırılmalı düşüklüğünü göstermektedir. Böylece bizim verilerimiz laparoskopik cerrahi 'nin aık cerrahiye göre avantajlı olduğunu gstermiştir.



SUMMARY

It has been known that surgery makes immunodepression on patients for a long time. For this reason several surgery techniques, and methods, which give the least harm to metabolism, and immun system of the patients, have been developed. Recently laparoscopic surgery method is used very widely.

Thirty Sprague - Dawley adult masculin rats, which had 250-300 gr mass, were used in this study. Rats were divided into three groups.

Group 1: These rats formed the control group. After an hour from kethamin anesthesia, tail section of the rats were cleaned with %10 Povidon Iode and 1 cc blood were taken from the tail section of these rats with sterilize insulin injector.

Group 2: Abdomen of the rats in this group was left open for an hour after 2 centimeter median incision, done. After the first hour, tail section of the rats were cleaned with %10 Povidon Iode and 1 cc blood were taken from the tail section of these rats with sterilize insulin injector. Then abdomen of these rats were closed, and at the end of the twenty fourth, and seventy second hours tail section of the rats were cleaned with %10 Povidon Iode and 1 cc blood were taken from the tail section of these rats with sterilize insulin injector (Picture 2).

Group 3: The abdomen of the rats in this group was entered from the abdomen bottom mid - quadrant with veress needle. Then needle was connected to electronic CO₂ insuflatory which has tuned to 0.2 lt/min transmission. The rats' abdominal pressures were rised to 10 mmHg level. After the end of the first, twenty fourth, and seventy second hours tail section of the rats were cleaned with s %10 Povidon Iode and 1 cc blood were taken from the tail section of these rats with sterilize insulin injector (Picture 3, 4).

Laparotomy was applied to the rats in the second group for an hour. Also pneumoperitoneum was applied to the rats in the third group for an hour. After these processes, all the blood samples, taken at the first, twenty fourth, and seventy second hours, were converted to serum by centrifuging with Heraeus RPM 1000 tester in biochemical laboratory at 5000 revolution for four minutes. Immulite automatical chemiluminescent

enzyme immunometric assay method, was used for measuring serum TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 parameters.

As a result, it was seen that laparotomy increased the serum cytokine levels significantly. In addition to this, comparatively being less of the serum cytokine levels, when laparoscopic surgery procedure is applied, shows the comparatively being less of the operative stress. Thus our data also shows that laparoscopic surgery is more advantageous with respect to the open surgery.



KAYNAKLAR

1. Eduardo M., Targarona M., Maria Jose P, et al. Acute phase is the significantly reduced component of the injury response after laparoscopic cholecystectomy. *World Journal of Surgery*; 20, 528-534, 1996.
2. Shry-Ming SC., Han-Shiang C., Hock L. Systemic immun response after laparoscopic and open cholecystectomy. *World Journal of Surgery*; 26, 1418-1422,2002.
3. Michael A., David H., Jeffrey B., Jorge L, et al. Mechanism of decreased in vitro murine macrophage cytokine release after exposure to Carbondioksidi. *Ann Surg*; 226, no:2, 179-190, 1997.
4. Sayek İ. *Temel Cerrahi. Laparoskopik Cerrahi.* 1610, 1993.
5. Glaser F., Sanwald G., Buhr HJ., et al. General stress response to conventional and laparoscopic cholecystectomy. *Ann Surg*; 221, 372-380, 1995.
6. Koolesterman T., Von Bolmberg BME, Borgstein P. Unimpaired immun functions after laparoscopic cholecystectomy. *Surgery*; 115, 424-428, 1994.
7. İwanaka T., Arkowitz MS., Arya G., et al. Evaluation of operative stress and peritoneal macrophage function in minimally invasive operations. *Journal of the Am Coll Surg*; 184, 357-363, 1997.
8. Redmond HP., Hofmann K., Shou J., et al. Effects of laparotomy on systemic macrophages function. *Surgery*; 111, 647-655, 1992.
9. Lin E., Lowry SF., Calvano SE. The systemic response to injury. *Principles of Surgery*; 13-21, 1999.
10. Bükey Y., Ergüney S., Ertem M. *Laparoskopik cerrahide temel ilkeler. İÜ CTF Genel Cerrahi AD*, 1994.
11. Safran DB., Orlando R., Federling K., et al. Physiologic effects of pneumoperitoneum. *Am J Surg*; 167, 281-285, 1994.
12. Fitzgerald SD., Andrus CH., Baudendistel LJ., et al. Hypercarbia during carbondioxide pneumoperitoneum. *Am J Surg*; 163, 186-190, 1992.
13. Fleming RY., Dougherty TB., Feig BW. The safety of helium for abdominal insufflation. *Surg Endosc*; 11, 230-234, 1997.
14. Paolo ND., Sacchi G. Anatomy and physiology of the peritoneal membrane. *Klinik ve Deneysel Cerrahi Dergisi*; 5, 12-19, 1997'den site edilmiştir.

15. Levine S., Simmons RL., Lennard ES., et al. Post inflammatory increase of absorption from peritoneal cavity into lymph nodes particulate and oil inokula. *Exp Mol Path*; 43, 124-134, 1985.
16. Dunn D., Barkc A., Knight B., et al. Role of resident macrophages, peritoneal neutrophils and translymphatic absorption in bacterial clearance from peritoneal cavity. *Infect Immun*; 49, 257-261, 1985.
17. Bercovici B., Michell C., Miller J., et al. Antimicrobial activity of human peritoneal fluid. *Surg Gynecol Obstet*; 141, 885-887, 1975.
18. Wijfells JF., Hendricks RJ., Steenbergen JJ., et al. Milky spots in the omentum may play an important role in the origin of peritoneal macrophages. *Res Immun*; 43, 401-409, 1992.
19. Dunn D., Barke A., Ewald C., et al. Macrophages and translymphatic absorption represent the first line of host defenses of the peritoneal cavity. *Arch Surg*; 112, 105-110, 1987.
20. Kuske AM., Rongione AJ., Reber HA. Cytokines and acute pancreatitis. *Gastroentol*; 110, 639-642, 1996.
21. Springer TA. Adhesion receptors of the immun system. *Nature*; 346, 425-434, 1990.
22. Tracy KJ., Vlassara H., Cerami A. Cachectin/tumour. *Lancet*, 1, 1122-6, 1989.
23. Tracy KJ., Lowry SF., Fahey TJ., et al. Cachectin/tumour necrosis factor induces lethal shock and stress hormone responses in the dog. *Surg Gynecol Obstet*; 164, 415-22, 1987.
24. Pobe JS. *Effects of tumors necrosis factor and related cytokines on vascular endothelial cells.* *Ciba Found Symp*; 131, 88-108, 1987.
25. Jacob CO. TNF- α in autoimmunity. *Immun Today*; 13, 1122-125, 1992.
26. Cohen MC., Chorn S. Cytokine function: A study in biologic diversity. *Am J Clin Path*; 105, 589-598, 1996.
27. Stites DP., Terr AI., Parslow TG. *Medical immunology.* Chapter 10, Prentice – Hall international inc., 145-168, 1997.
28. Hirano T., Akjira S., Taga T., Kishimoto T. Biological and clinical aspect of interleukin-6. *Immun Today*; 11, 443-9, 1990.
29. Hillman GG., Hass GP. Role of cytokine in lymphocyte function. *Human Cytokines*; 37-54, 1995.
30. Lennard TWJ., Shenton BK., Borzotta A., et al. The influence of surgical operations on components of the human immun systems. *Br J Surg*; 72, 771-6, 1985.

31. Slade M., Simmonds R., Edmond Y., et al. Immundepression after major surgery in normal patients. *Surgery*; 78, 363-72, 1975.
32. Kuroako S., Compeau JD., et al. Modulation of cytotoxik activity of resident macrophages by postsurgical macrophages. *J Surg Res*; 55, 397-403, 1993.
33. Castell YV., Andus T., Kunz T. Interleukin-6: The major regulator of acut phase protein synthesis in man and rat. *Ann N Y Acad Sci*; 557, 87-99, 1989.
34. Baigrie J., Lamont PM., Morris J., et al. Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg*; 79, 757-60, 1992.
35. Shenkin A., Fraser WD., Series J., et al. The serum IL-6 response to elective surgery. *Lymphokine Res*; 8, 123-7, 1989.
36. Vittimberga FJ., Foley DP., Meyers WC., et al. Laparoscopic surgery and the systemic immun response. *Ann Surg*; 227, 326-34, 1998.
37. Bruce M., Malcom S., et al. Minimal access surgery for choletiasis induces an attenuated acute phase response. *Am J Surg*; 178,232-34, 1999.
38. Yahara N., Abe T., Morita K., et al. Comparison of IL-6, IL-8 and GMS-F factor production by the peritoneum in laparoscopic and open surgery. *Surg Endos*; 16, 1615-19, 2002.
39. Veo H., Ineoue H., Honda M., et al. Production of IL-6 at operative wound sites in surgical patients. *Br J Surg*; 82, 1060-65, 1994.
40. Jacobi C., Ordeman J., Zieren U., et al. Increased systemic inflammation after laparotomy vs laparoscopy in an animal model of peritonitis. *Arch Surg*; 133, 258-62, 1998.
41. Carozzi S., Caviglia V., Nasini G., et al. Peritoneal dialysis solution pH concentrastion regulate peritoneal macrophages and mesotelial cell activation. *ASAIO J*; 40, 20-23, 1994.
42. Zhang X., Morrison DC. LPS induced selective priming effects on TNF- α and NO production in mouse peritoneal macrophages. *J Exp Med*; 177, 511-16, 1993.
43. Watso RW., Redmond HP., McCarhy J., et al. Exposure of the peritoneal cavity to air regulates early inflammatory responses to surgery in murine model. *Br J Surg*; 82, 1060-65, 1995.
44. Redmond HP., Watso RWG., Houghton RG., et al. Immun function in patients undergoing open vs laparoscopic colesistectomy. *Arch Surg*; 129, 1240-46, 1994.