

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**TAVŞAN MODELİNDE
LAPAROSKOPİK İSKEMİK PREKONDİSYON MANEVRASININ
OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. AHMET MELİH AKYOL

AFYONKARAHİSAR 2007

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**TAVŞAN MODELİNDE
LAPAROSKOPİK İSKEMİK PREKONDİSYON MANEVRASININ
OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. AHMET MELİH AKYOL

DANIŞMAN: DOÇ.DR. SERHAN CEVRİOĞLU

AFYONKARAHİSAR 2007

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

Tez Başlığı : **Tavşan Modelinde Laparoskopik İskemik Prekondisyon
Manevrasının Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması**
Tezi Hazırlayan : **Dr. Ahmet Melih AKYOL**
Tez Savunma Tarihi : **26.01.2007**
Tez Kabul Tarihi : **26.01.2007**
Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Serhan CEVRİOĞLU**

İş bu çalışma jürimiz tarafından **KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİMDALI**'nda **TIPTA UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN
Doç. Dr. Cem GÜLER
Üroloji Anabilim Dalı

ÜYE
Doç. Dr. Serhan CEVRİOĞLU
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ÜYE
Doç. Dr. Mehmet YILMAZER
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ÜYE
Doç. Dr. Sezgin YILMAZ
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

ÜYE
Yrd. Doç. Dr. Gülelgül KÖKEN
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ONAY
DEKAN
Prof. Dr. AHMET ÇEKİRDEKÇİ

Başta tez hocam Doç. Dr. Serhan CEVRİÖĞLU olmak tez çalışmalarımnda emeği geçen Doç. Dr. Fatma AKTEPE'ye, Doç. Dr. İsmet DOĞAN'a, Doç. Dr. Tülay KÖKEN' e, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin FİDAN'a, katkılarından dolayı Dr. Nevin TOPAK, Dr. Arif İBİŐ'e, Dr. Muhammed YİĞİT'e, Dr. Mesut KSE'ye, Stajer Dr. Burak ASILTAŐ'a, Stajer Dr. Mehmet ÖZEL'e, Stajer Dr. Ali SOLMAZ'a ve diğer çalışma arkadaşlarıma teŐekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

I.GİRİŞ VE AMAÇ	1
II.GENEL BİLGİLER	3
2.1.LAPAROSKOPİK CERRAHİ	3
2.1.1.LAPAROSKOPİK CERRAHİNİN TARİHÇESİ	3
2.1.2.LAPAROSKOPİK CERRAHİNİN TEMEL İLKELERİ	6
2.1.2.1.LAPAROSKOPİ ÖNCESİ HAZIRLIK	6
2.1.2.2.ANESTEZİ VE HASTA POZİSYONU	6
2.1.2.3.LAPAROSKOPİ TEKNİĞİ	7
2.1.2.4.PNÖMOPERİTONEUM	7
2.1.2.5.KAPALI ŞİŞİRME TEKNİĞİ	8
2.1.2.6.AÇIK ŞİŞİRME TEKNİĞİ-HASSON TROKARI	8
2.1.2.7.TELESKOP	9
2.1.2.8.IŞIK KAYNAĞI	9
2.1.2.9.TROKARIN YERLEŞTİRME NOKTALARI	9
2.1.2.10.LAPAROSKOPİK PERİTONEAL KAVİTE İZLEMİ	10
2.1.2.11.VERESS İĞNESİ	10
2.1.2.12.CO2 İNSÜFLATÖR	11
2.1.2.13..TROKAR	11
2.1.2.13.1.TROKARLARIN YERLEŞTİRİLMESİ	11
2.1.2.13.2.TROKAR UYGULAMASINDA TEMEL KURALLAR	11
2.1.2.14.FORSEPS VE MAKASLAR	12
2.1.2.15.BİPOLAR VE UNİPOLAR ELEKTROKOTERLER	12
2.1.2.16.LAPAROSKOPİDE LASER KULLANIMI	13
2.1.2.17.ASPİRASYON VE YIKAMA SİSTEMİ	13
2.1.2.18.LAPAROSKOPİK SÜTÜR ATILMASI	13
2.1.2.19.DOKU MORSELATÖRÜ	13
2.1.2.20.UTERİN MANÜPLATÖR	14
2.1.2.21.LAPAROSKOPİK ALETLERİN STERİLİZASYONU	14
2.1.2.21.1.KİMYASAL STERİLİZASYON	14
2.1.2.21.2.OTOKLAV VE STERİLİZASYON	15
2.1.2.21.3.GAZ İLE STERİLİZASYON	15
2.1.2.23. JİNEKOLOJİDE LAPAROSKOPİNİN KULLANIMI	15

2.1.2.23	LAPAROSKOPİNİN KONTRENDİKASYONLARI	15
2.1.2.24	LAPAROSKOPİNİN KOMPLİKASYONLARI	16
2.1.2.24.1	POSTOPERATİF KOMPLİKASYONLAR	17
2.2	SERBEST RADİKALLER	18
2.2.1	REAKTİF OKSİJEN ÜRÜNLERİ	19
2.2.1.1	SÜPEROKSİT ANYONU	19
2.2.1.2	HİDROJEN PEROKSİT	20
2.2.1.3	HİDROKSİL RADİKALİ	20
2.2.2	SERBEST RADİKAL OLUŞUM NEDENLERİ	21
2.2.3	REAKTİF OKSİJEN ÜRÜNLERİNİN ETKİLERİ	21
2.2.3.1	MEMBRAN LİPİDLERİNE ETKİLERİ	21
2.2.3.2	PROTEİNLERE ETKİLERİ	23
2.2.3.3	DNA'YA ETKİLERİ	23
2.2.3.4	KARBONHİDRATLARA ETKİLERİ	23
2.3	ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	23
2.3.1	SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ	25
2.3.2	GLUTATYON PEROKSİDAZ	25
2.3.3	GLUTATYON-S-TRANSFERAZ	26
2.3.4	KATALAZ	26
2.3.5	SİTOKROM OKSİDAZ	26
2.3.6	C VİTAMİNİ (ASKORBİK ASİT)	26
2.3.7	E VİTAMİNİ	27
2.3.8	BETA KAROTEN	27
2.3.9	MELATONİN	27
2.3.10	GLUTATYON	27
2.3.11	SİTOKİNLER	28
2.3.11.1	İNTERLÖKİN 6	28
2.3.11.2	TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR	29
2.4	LAPAROSKOPİK CERRAHİYLE OLUŞAN OKSİDATİF STRES	30
2.5	LAPAROSKOPİK İSKEMİK REPERFÜZYON HASARI	36
2.6	İSKEMİK PREKONDİSYON	36
2.6.1	LAPAROSKOPİK İSKEMİK PREKONDİSYON	38

III.MATERYAL VE METOD	39
3.1.DENEKLERİN ÖZELLİKLERİ	39
3.2.DENEKLERİN RANDOMİZASYONU	40
3.3.ANESTEZİ VE HEMODİNAMİK TAKİP	40
3.4.CERRAHİ TEKNİK	41
3.5.PNÖMOPERİTONEUMUN GERÇEKLEŞMESİ	41
3.6.LAPAROSKOPİK DOKU ÖRNEĞİ ALINMASI	43
3.7.PERİTONEAL DOKU ÖRNEĞİ ALINMA ZAMANLARI	43
3.8.GRUPLAR	44
3.8.1.KONTROL GRUBU	44
3.8.2.Pp10 GRUBU	44
3.8.3.Pp15 GRUBU	45
3.8.4.İPPp15 GRUBU	45
3.9.DENEKLERİN SAKRİFİKASYONLARI	45
3.10.PERİTONEAL DOKUNUN HAZIRLAMASI VE SAKLANMASI	45
3.11.DOKULARIN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ	50
3.12.İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYANMA	50
3.13.DOKUNUN BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRİLMESİ	51
3.14.İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	52
IV.BULGULAR	53
4.1.ÇALIŞMADAN ÇIKARTILAN DENEKLER	53
4.2.BİYOKİMYASAL PARAMETRE DEĞERLERİ	53
4.2.1.DOKU MDA DEĞERLERİ	56
4.2.2.DOKU İL-6 DEĞERLERİ	57
4.2.3.DOKU TNF- α DEĞERLERİ	58
4.2.4.DOKU GR DEĞERLERİ	59
4.2.4.DOKU GPx DEĞERLERİ	60
4.3.HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	62

V.TARTIŞMA	64
VI.SONUÇ.	82
VII.ÖZET.	84
VIII.SUMMARY	86
IX.KAYNAKLAR	87

TABLÖLAR

Tablo-1a: Laparoskopinin kesin kontrendikasyonları

Tablo-1b: Laparoskopinin rölatif kontrendikasyonları

Tablo-2: Operatif laparoskopinin komplikasyonları

Tablo-3: Peritoneal MDA'nın laparoskopik uygulama sürecindeki değişimi

Tablo-4: Peritoneal İL-6'nın laparoskopik uygulama sürecindeki değişimi

Tablo-5: Peritoneal TNF- α 'nın laparoskopik uygulama sürecindeki değişimi

Tablo-6: Peritoneal GR'nın laparoskopik uygulama sürecindeki değişimi

Tablo-7: Peritoneal GPx'nın laparoskopik uygulama sürecindeki değişimi

ŞEKİLLER

Şekil-1: Glutasyon redoks sistemi

Şekil-2: Kontrol grubu deneklerine uygulanan pnömoperitoneum tekniği

Şekil-3: Pp10 grubu deneklere uygulanacak pnömoperitoneum tekniği

Şekil-4: Pp15 grubu deneklere uygulanacak pnömoperitoneum tekniği

Şekil-5: İPPp grubu deneklere uygulanacak pnömoperitoneum tekniği

Şekil-6: Operasyon süresince gruplardaki periton MDA değişiminin grafiksel gösterilmesi.

Şekil-7: Operasyon süresince gruplardaki periton İL-6 değişiminin grafiksel gösterilmesi.

Şekil-8: Operasyon süresince gruplardaki periton TNF- α değişiminin grafiksel gösterilmesi.

Şekil-9: Operasyon süresince gruplardaki periton GR değişiminin grafiksel gösterilmesi.

Şekil-10: Operasyon süresince gruplardaki periton GPx değişiminin grafiksel gösterilmesi.

KISALTMALAR

- D : Desuflasyon
e⁻ : Elektron
ELİSA: Enzim immünassay
GPx: Glutasyon peroksidaz
cGPx: Sitozolik Glutasyon peroksidaz
GR: Glutasyon redüktaz
GSH: Redükte glutasyon
H₂O₂: Hidrojen peroksit
HCl: Hidroklorik asit
İAB: İnteraabdominal basınç
İL: İnterlökin
İL-6: interlökin 6
İNOS: İnducible nitrik oksit sentaz
İP: İskemik prekondisyon
LİPKM: Laparoskopik iskemik prekondisyon manevrası
LİRH: Laparoskopik iskemik reperfüzyon hasarı
MDA: Malonildialdehid
NK: Doğal öldürücü
O₂⁻ : Süperoksid anyonu
O₂: Oksijen molekülü
OH⁻ : Hidroksil radikali
Pp: Pnömooperitoneum
Pp10: 10 mmHg ile pnömooperitoneum uygulanması
Pp15: 15 mmHg ile pnömooperitoneum uygulanması
RO: alkoksil radikali
ROO: Peroksit radikali
ROS: Reaktif oksijen ürünleri
SOD: Süperoksit dismutaz
TNF- α : Tümör Nekroz faktör alfa

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Laparoskopik cerrahi son yıllarda jinekologların büyük bir kısmı tarafından tanı ve tedavi amaçlı uygulanan cerrahi bir yöntem olmuştur. Laparoskopi daha düşük morbidite, daha iyi kozmetik sonuçlar, daha kısa hastanede yatış süresi, daha düşük postoperatif ağrı oluşturduğu için hızla laparatomik metotların yerini almaktadır (1).

Laparoskopik cerrahinin açık ameliyatlara kıyasla bir çok avantajı olmasına rağmen, laparoskopide peritoneal boşluğa gaz insüfle edilmesiyle pnömoperitoneum oluşturulması gerekliliğinden, laparoskopi kendine has bazı pnömoperitoneum etkilerini de beraberinde getirir (2,3).

Pnömoperitoneum (Pp) esnasında karın içi basıncı (IAB) artar. Karın içi basıncı, karındaki organlarındaki makro ve mikro dolaşımı kademeli olarak etkiler. Yapılan çalışmalar, normal fizyolojik portal dolaşımın basıncının (7-10 mmHg) üstünde olan IAB'nin karaciğer, böbrek ve bağırsaklardaki dolaşımı belirgin bir düşüşe sebep olduğunu göstermiştir.

Pp'da en yaygın kullanılan gaz olan CO₂ lokal etki ile doku yüzeylerini kurutarak ve alt mezotelial tabakanın doku bütünlüğünü bozarak hücresel yapının değişimine yol açar.

Pp'a bağlı karın içi basınç artışı portal damarın baskılanmasını sağlar, bu durumda karın içi dolaşımında kan stazına neden olur. Bu staz, doku oksijenlenmesini azaltarak, hipoksik ortamda, anaerobik hücre metabolizmasında, asidozun gelişmesini ve devamında da reaktif oksijen türleri (ROS) üretimine neden olur (4).

Peritoneal doku, kılcal kapiller ağı ve mezotelyum dokularında bulunan lenfatiklerle bağlantılı, içinde birçok inflamatuvar mediyatörleri, vasoaktif kininleri, sitokinleri ve ROS'ları bünyesinde bulunduran bir yapıdır. (5-7)

Biz bu çalışmamızda laparoskopide uygulanan Pp'un oluşturduğu İAB ile oluşan iskeminin oksidatif stres oluşturup oluşturmadığını, oluşan oksidatif stressin inflamasyonu tetikleyip tetiklemediğini ortaya koymayı amaçladık. Bunu ortaya koymak ve gruplar arası karşılaştırmayı sağlamak amacıyla 3 farklı zamanda alacağımız peritoneal dokuyu biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelemeyi planladık. Ayrıca çalışmada laparoskopinin yüksek basınç Pp uygulanmasının oksidatif stres aracılığıyla oluşturduğu iddia edilen negatif etkilerinin laparoskopik iskemik prekondisyon manevrasıyla nasıl etkileneceğini ortaya koymayı amaçladık. Randomize olarak gruplandırdığımız deneklere düşük basınçlı başka bir grup ekledik ki bu gruba yüksek basınçlı grubu karşılaştırıp uyguladığımız materyal metodumuzun güvenilirliğini irdelerken, laparoskopik iskemik prekondisyon manevrası uygulanan grubun düşük ve yüksek basınçlı gruplara ve kontrol grubuna göre konumunu belirlemek istedik. Operasyon süresince laparoskopik peritoneal biyopsi alınması, hemodinamik takip uygun olduğundan entübe edilebileceği ve inhaler anestezi uygulanabileceğinden denek olarak tavşan denekler seçildi. Bu çalışmada hemodinamik stabilite sağlanmış deneklerde, laparoskopik iskemik prekondisyon manevrası ardından yüksek basınçlı Pp uygulananlar ile yüksek veya düşük basınç Pp uygulanan iki farklı grubun, oksidatif stres açısından karşılaştırılmasının amacı, laparoskopik uygulamanın süresi ile farklı basınçlarla oluşan Pp'un ve laparoskopik iskemik prekondisyon manevrasının (LİPKM) oksidatif stres üzerine olan etkilerinin farklılıklarını ortaya koymaktı.

Biz bu çalışmayla aşağıdaki şu sorulara yanıt aramayı amaçladık.“Acaba Pp'la peritoneal dokuda lokal oksidatif stres gelişiyor mu?”, “Peritoneal dokuda oksidatif stres geliyorsa antioksidan aktivite bundan nasıl etkileniyor?”, “Farklı basınçların peritoneal dokudaki oksidan/antioksidan dengesine etkisi nedir?”, “Yüksek basınçlı Pp'a önceki çalışmalarda oksidatif stresi azalttığı gösterilen LİPKM eklersek bu peritoneal dokudaki oksidatif stresi seviyesini etkiler mi?”, “LİPKM operasyonun farklı zamanlarında tespit edilecek oksidan/antioksidan dengesini nasıl etkiliyor.”, “Erken ve geç alınan peritoneal doku örneğine

dayanılarak düşük ve yüksek basıncın erken ve geç dönem oksidatif stres üzerine etkileri nedir?”

II.GENEL BİLGİLER

2.1.LAPAROSKOPIK CERRAHİ

2.1.1.LAPAROSKOPIK CERRAHİNİN TARİHÇESİ

Tıp tarihi içinde endoskopi uygulanmaları ilk rektal spekulumu tanımlayan Hipokrat kadar (M.Ö.460-375) gider. 1587’de Aranzi, güneş ışınlarını su dolu bir cam küre içinden geçirerek odakladığı nazal boşluğu incelmede kullanmıştır. Modern anlamda ise lens sistemleri 1987’de Nitze tarafından geliştirilmiştir. Edison’un elektriği keşfinden sonra 20. yüzyılın başlarında o güne kadarki tüm gelişmelerin birleşimi ile modern laparoskopi kullanıma girmiştir (8).

1900’lerin başlarında endoskopi daha çok mesane, rektum, larinks, özofagus incelemesinde kullanılmakla birlikte 1901 yılında Dimitri Von Ott isimli bir Rus jinekolog abdominal kaviteyi direkt olarak görüntülemek için yeni bir teknik ortaya koydu. Bu metoda ya batın duvarından veya vajenden yapılan bir insizyonla direkt olarak ışık kaynağı veriliyor ve insizyon spekulumla açık tutularak operasyon tamamlanıyordu. Bu daha çok batın içinin daha iyi görüntülenmesini sağlayan bir teknikti ve bu teknikte laparoskop kullanılmadı. Bu nedenle bu teknik laparoskopiden çok laparotomiye andırmaktaydı (8).

İlk olarak abdominal kaviteyi endoskop ile inceleyen kişi ise George Kelling’dir. Kelling bu uygulamayı 1901’de canlı bir köpekte Nitze sistoskopi kullanarak yapmış ve yöntemi “ Koelioskopi” olarak adlandırmıştır. Bu yapılan ilk laparoskopide pnömoperitoneum yaratmak için bir ponksiyon iğnesi kullanarak batına hava verilmiş ve sistoskop (laparoskop) daha geniş bir trokardan batına sokulmuştur. Kelling’in kullandığı teknik aletlerin ilkelliğine rağmen şu anki laparoskopi prensiplerine göre doğrudu (9).

Dimitri Von Ott ve George Kelling ile beraber 1910'da asitli hastalar üzerinde ilk laparoskopiyi uygulayan Jacobeus modern laparoskopinin babaları sayılmaktadır (8).

John Hopkins Üniversitesi'nden Bertram M. Bernheim 1910'da tıbbı yeni bir terim ekledi: "organoskopi". Laparoskop olarak basit bir proktoskop kullandı. Yayınladığı 2 hastadan birinde mekanik iktere neden olan pankreas Ca., diğer hastada ise kronik apandisit saptadı. Bu yayın A.B.D.'de laparoskopinin kullanıldığına dair ilk yayındır (10).

1925 yılında Nadeu ve Kampmeier laparoskopi altında ilk önemli ve ciddi yayın yaptılar. Laparoskopinin detaylı bir tarihçesini 42 referansla birlikte yayınlamışlardır. Buna ek olarak, eldeki aletlerin eksiklerini eleştirmişler ve köpeklerde pnömoperitoneumdan havanın emilimine ait deneysel bir çalışma yayınlamışlardır (10).

Alman hepatolog Kalk 135° açılı lens ile çift trokarlı tekniği tanıttı. Bu çift trokarlı teknik laparoskopinin temelini atmıştır. 1951 yılında, hiç ölümün görülmediği kendine ait 2000 hastalık çalışma serisini yayınladı (10).

1937 yılında A.B.D. John C. Ruddock "peritonoskopi" adlı yayınında 4 yılda topladığı 500 hastalık serisini yayınlamıştır. Bu seride 39 biyopsi alındığı bildirilmektedir. Bu; laparoskopik biyopsi alanındaki ilk yayınlardan biridir. Ruddock dahiliyeci olmasına karşın bu 500 kişilik seriyi "Surgery, Gynecology ve Obstetrics" adlı cerrahi dergide yayınladı. Dahiliyeci Ruddock' un bu yayındaki amacı cerrahlarla kendi tecrübelerini paylaşmaktı (10).

Daha sonraki yıllardaki hızlı gelişmelerle laparoskopi bugünkü konumuna kavuşmuştur. Nordentoeft, 1912'de Trendelenburg pozisyonunu tarif etmiş ve ilk trokarı kullanmış; 1925'te Zollikofer insuflasyon amacıyla CO2 kullanmaya başlamış ve 1938'de Janos Veress, bugün de kullanılan insuflasyon iğnesini tariflemiştir (10).

1933' de bir genel cerrah olan Fervers, adezyolizis amacıyla ilk operatif laparoskopiyi uygulamış 1937'de ise Hope ektopik gebelik tanısında ilk olarak laparoskopiyi başvurmuştur (10).

Işık kaynaklarının yetersizliği laparoskopinin gelişimini bir süre için engellerken, 1940'larda ilgi Te Linde tarafından kullanım alanına sokulan kuldoskopiye kaymış ve bu yöntem özellikle 1960'ları sonlarına kadar tercih edilir olmuştur (10).

2. Dünya savaşı sonrasında 1943'de Fourestiere'nin soğuk ışık kaynağı keşfi, 1953'de Hopkins'in daha gelişmiş lens sistemlerini ve 1950'lerin Frangenheim'in modern anlamda CO2 insuflatorunu kullanıma sokması ile laparoskopi büyük bir hamle yapmıştır (10).

Operatif laparoskopi, 1950'lerde kullanıma giren unipolar elektrokoagülasyonun laparoskopik uygulamasıyla başlar. Elektrik yanıklarına bağlı komplikasyonlar Frangenheim'i bipolar koterizasyonu geliştirmeye yöneltmiş ve operatif laparoskopi uzunca bir süre sonra bu enerji kaynaklarının kullanımıyla uygulanan tubal strelizasyonla sınırlı kalmıştır. 1975'te Yonn ve Hulka tarafından geliştirilen halka ve klipler tubal sterilizasyonda giderek elektrokoagülasyonun yerini almayı başarmıştır (8).

Kaplan tarafından 1973'de servikal lezyonların tedavisi amacıyla jinekolojik uygulanım alanı bulan lazer teknolojisi ilk olarak 1979'da Bruhat ve ark. tarafından adezyolizis ve endometriosis tedavisinde laparoskopik yolla kullanılmıştır (8).

Laporoskopik cerrahinin uygulanma alanı genişledikçe yeni tekniklerin ilavesi gerekli olmuştur. Uzun süreli cerrahi girişimlerin kaçınılmaz sonucu olan rahatsızlık ve yorgunluk vücudu destekleyen platformlar ve moniterizasyonu ile önlenmeye çalışılmıştır. Laparoskopinin video ile görüntülenmesi cerrah ve

asistan tarafından koordinasyonu arttırmak, operasyon alanının görüntüsünü büyütme, ameliyathane personelinin ilgisini canlı tutmak ve en önemlisi eğitime çok önemli katkıda bulunmak yönleriyle kullanılmaktadır (8).

2.1.2.LAPAROSKOPİK CERRAHİNİN TEMEL İLKELERİ

Laparoskopi; detaylara gösterilen özen, aletlere olan alışkanlık, intrapelvik yapılar hakkında geniş ilgi ve yeterli tecrübe ile ancak güvenli, doğru ve hastanın maksimum yararına olacak bir işlemdir.

2.1.2.1.LAPAROSKOPİ ÖNCESİ HAZIRLIK

Jinekolojik laparoskopi yapılmadan önce hastanın tam bir öyküsü alınmalı ve fizik muayenesi yapılmalıdır. Hasta şikâyetlerine yönelik endike laboratuvar testleri yapılmalıdır. Hemogloblin seviyesi bilinmeli, gereken durumlarda idrar tetkiki, servikal ve vajinal kültürler alınmalıdır. Yakın zamanda pap smear yoksa alınmalıdır. Hastanın işlem hakkında bilgi sahibi olması, yarar ve zararlarını bilmesi sağlanmalıdır. Operasyon öncesinde hastadan bilgilendirilmiş onam alınmalıdır (10).

2.1.2.2.ANESTEZİ VE HASTA POZİSYONU

Lokal anestezi kullanılabilir olmasına rağmen laparoskopide genel anestezi tercih edilir (11). Bu hem hastaya hem de cerraha büyük rahatlık sağlar, manipülasyon alanı genişler ve işlemin güvenliği artar. Cerrah sağ elini kullanıyorsa, hastanın solunda pozisyon almalı ve İV sıvılar sağ koldan verilmelidir. Sol kol hastanın yanında ve hastaya paralel olarak tespit edilmelidir (10). Sol kolun hastanın yanında açık olması cerrahın hareket sahasını kısıtlamasının yanı sıra brakial pleksus zedelenmelerine yol açabilir.

Anestezi indüksiyonuna hasta masada horizontal ve süpin pozisyonda iken başlanır. Bazı cerrahlar hastalara bu pozisyonda laparoskopi yapmalarına rağmen genelde ayaklıklarla dorsal litotomi pozisyonu tercih edilir. Bu yolla vajene kolay ulaşılır, uterus manüplatörü kullanma rahatlığı sağlanır (9). Ayrıca bu pozisyonda ek olarak histeroskopi de yapılabilir.

2.1.2.3.LAPAROSKOPİ TEKNİĞİ

Laparoskopinin aşağıda belirtilen sırayla yapılması hem hasta hakkında bilgi edinme hem de hastaya en az zararı verme yönünden önemlidir (10).

1. Enstrümanların kontrolü
2. Perine ve mesane hazırlığı
3. Pnömooperitoneumun sağlanması
4. Temel trokar ve teleskopun yerleştirilmesi
5. Yardımcı enstrümanların yerleştirilmesi
6. Laparoskopik batın incelemesi
7. Enstrümanların çıkarılması ve abdomenin kapatılması

İşlem öncesi perineal ve pubik kılların temizlenmesinin enfeksiyonu önlemede avantajı yoktur. Fakat genelde ikinci giriş yeri pubik kıl seviyesinin altında olduğundan operasyondan önce veya operasyon esnasında küçük bir sahada temizlik yapılabilir (10).

Hastanın abdomeni, pelvis ve vajeni antiseptik solüsyonlarla yıkanır ve pelvik muayene ile uterusun hareketliliğini, boyutunu ve pozisyonu hakkında bilgi sahibi olunur. Mesane sonda ile boşaltılır, eğer işlem uzun sürecekse kalıcı kateter konulabilir. Uterin Manüplatör (UM) serviks yerleştirilir. Ancak gebelik şüphesi varsa UM kullanılmamalıdır (12).

2.1.2.4.PNÖMOPERİTENUM

Laparoskopi için gerekli pnömooperitenumun umbilikusun içinden karın boşluğu içine sokulan bir Veress iğnesi aracılığıyla verilen gaz (genellikle CO₂) ile sağlanır. Geçirilmiş operasyonlara bağlı olarak bu bölgede skar dokusu olan hastalarda umblikusa alternatif noktalardan yararlanılabilir (13).

Pnömooperitoneum yaratmak amacıyla kullanılan insuflatörler, genellikle 1 lt/dk hızla CO₂ verirlerken, (bazı modellerdeki hızlı akım düzeni 6 lt/dk.)

intraabdominal basıncı istenen seviyede sabit tutarak, özellikle operatif laparoskopide yarar sağlar (10).

2.1.2.5.KAPALI ŞİŞİRME TEKNİĞİ

Pnömomperitoneum bir Veress iğnesi kullanılarak oluşturulur. Bu iğnelerin uzunluğuna göre 2 tipi vardır: 120 mm ve şişman hastalar için 150 mm.

15 numara bisturi ile göbek altında 1 cm'lik insizyon yapılır. Umbilikusun altındaki cilt cerrah tarafından tutulur ve yukarı kaldırılır. Eğer cilt çok gergin yada hasta şişman ise bu işlem için çamaşır klempleri kullanılır. Cerrah iğneyi pelvise doğru yönlendirilir. Batın içine girdiğini hissedilir. 10 ml serum fizyolojik dirençsiz enjekte edilip aspire edilerek iğnenin batın içinde olup olmadığı kontrol edilir (8).

Daha sonra iğne insüflatör borusuna bağlanır. Bu aşamada ölçülen basınç 8-10 mm Hg'yı geçmemelidir. Eğer basınç bundan yüksek ise iğne hafifçe oynatılır. Basınç hala yüksek ise iğne çıkarılır çünkü pozisyonu doğru değildir. İşlem tekrar denir (10).

Laparoskopik girişimlerde karın içi basıncı 12 -14 mmHg'da tutulur. Hastanın genel durumu anestezi tarafından izlenir. Daha önce ameliyat edilmiş hastalarda, Hasson trokarı kullanılarak açık şişirme tekniği uygulanabilir (10).

2.1.2.6.AÇIK ŞİŞİRME TEKNİĞİ – HASSON TROKARI

Bu trokar daha önce ameliyat geçirmiş, karın içi yapışıklıkları bulunan hastalarda kullanılır. Fasyada 1,5 – 2 cm'lik insizyon yapılır. Karın içine bir parmak nazıkçe sokularak, künt disseksiyon ile yapışıklıkla ayrılır ve trokarın izleneceği yol oluşturulur. Teleskop karın içine yerleştirilir (13).

2.1.2.7.TELESKOP

Pnömoreitoneum oluşturulduktan sonra aynı yerde batına yerleştirilen trokarın kılıfından teleskoplara direkt veya oblik (30-45 derece açılı) görüntü sağlanır (13). Diagnostik laparoskopi amacıyla 5 mm'lik teleskoplar yeterli olabilirken, operatif laparoskopi amacıyla daha geniş ve aydınlık bir görüntü alanı sağlayan 10 mm'lik teleskoplar tercih edilir. En ideal görüntü 10 mm'lik 0 derece optiklerle sağlanır (13). 0 derecelik 5 mm ve 7 mm'lik optiklerde panoramik mükemmel görüntüler artık sağlanmaktadır (10).

Laparoskopa lens yardımıyla görüntünün 2-3 kat büyütülmesi mümkün olmakta ve böylelikle laparoskopik mikrocerrahi uygulamalarına imkan doğmaktadır (8).

2.1.2.8.IŞIK KAYNAĞI

Laparoskopi her zaman kamerayla gerçekleştirildiğinden dolayı ışık kaynağının kalitesi kaliteli görüntü sağlamak için çok önemlidir. Dokunun kanla boyandığı durumlarda zayıf ışık kaynakları yetersiz kalmaktadır. Bundan dolayı iyi kaliteli ışık kaynağına sahip olmak gereklidir. (Xenon ışık kaynağı gibi) Rutin müdahalelerde 175 watt genellikle yeterlidir (10). Daha güçlü ışık kaynağı daha fazla ısı oluşturur. Işık kablosu uzunluğu 180 cm'den 350 cm. arasında, kalınlığı 3.5 mm ile 6 mm çapında fiberoptik veya sıvı jel olabilir. Genel laparoskopi için 240 cm. uzunluğunda 5 mm çapındaki bir kablo seçilmelidir (11).

2.1.2.9.TROKARLARIN YERLEŞTİRME NOKTALARI

Laparoskopik cerrahide kullanılacak aletler için gerekli olan ikinci, üçüncü ve hatta dördüncü giriş noktalarının belirlenmesinde uygulanacak cerrahi girişimin göz önünde tutulması esastır. Operatif girişimin süresince adnekslerin stabilizasyonuna yönelik ikinci giriş noktası umblikus altında orta hat üzerinden yapılmalıdır. Diğer giriş noktalarının işlemin uygun bir açı ile sürdürülmesini sağlayacak şekilde, operasyon alanının her iki lateralinde planlanması gerekir (10).

Giriş noktalarından enstrümanların yerleştirilmesi, ne manipülasyonu engelleyecek kadar birbirine yakın, ne de laparoskopun gerisinde kalarak görüntü alanına getirilmelerini zorlaştıracak şekilde çok yukarıdan olmalıdır.

Aksesuar giriş noktalarından yerleştirilecek trokarların geniş venleri ve özellikle inferior inferior epigastrik damarları travmatize etmemesi amacıyla karın ön duvarının transillüminizasyonunu kullanmak yararlıdır (10). Karın ön duvarındaki kanamalar, koagülasyon ile genellikle kontrol edilebilir. Kanamanın koagülasyona rağmen devam etmesi halinde giriş noktaları genişletilerek sorun yaratan damarlar bulunabilir. Diğer pratik bir uygulama ise kalın bir Foley kateterinin kanamanın olduğu giriş noktasından içeri sokularak şişirilmesi ve traksiyon altında karın ön duvarına tespit edilmesidir (9).

2.1.2.10.LAPAROSKOPIK PERİTONEAL KAVİTE İZLEMİ

Laparoskopik inceleme tüm peritoneal kavitenin gözden geçirilmesiyle başlar. Parietal periton, visseral yüzeyler, abdominal ve pelvik organların gözlem ve değerlendirilmesi gerekir. İşleme hasta horizontal pozisyonda iken, periton kavitesi hakkında genel bir fikir sahibi olarak başlanır, üst abdomen, karaciğer, safra kesesi, mide ve diafragma değerlendirilir (10). Barsaklar pelvisten uzaklaştırıldıktan sonra belli mesafeden pelvis uterus manüplatöründe yardımıyla panoramik olarak gözlenir. Bundan sonra laparoskop iletilerek pelvik organlar sırasıyla sistematik olarak değerlendirilir (11).

2.1.2.11.VERESS İĞNESİ

Disposable veya reusable (tekrar kullanılabilir) veress iğneleri pnömoperitoneum için gereklidir. Laparoskopik cerrahinin maliyetini azaltmak için reusable tipler tercih edilmelidir. Endoskopist veres iğnesinin abdominal duvardan geçerken fasciadan ve peritondan geçişini hissederek fark etmelidir (10).

2.1.2.12.CO2 İNSUFLATÖR

CO2 insüflatör peritoneal kavitede yeterli distansiyonu sağlamak için gereklidir. Bu alet, İntraabdominal basıncı emniyet sınırı olan 12-16 mmHg

aşmaksızın sabit tutmak ve de dakikada 15 – 30 litre CO2 insüfle eden teknik özelliğe sahiptir (13). İntraabdominal basıncın devamlı kontrolü, doğru olmayan pozisyonlardaki veres iğnesi ile ilgili preperitoneal amfizem, omentum, bağırsak ve damara girilmesi gibi komplikasyonları önlemeye yardım eder (14).

2.1.2.13.TROKAR

Veres iğnesi ile pnömoperiton gerçekleştirildikten sonra ki bu sırada intraabdominal basınç 15 mmHg olması öngörülür. Sol el ile karın duvarı kaldırılırken kontrolü bir şekilde ana trokar göbekte 1 cm kadar cilt altında ilerledikten sonra, 45 derece ile karına yerleştirilir (9).

5 mm'lik suprapubik trokarlar ise reusable veya disposable olabilir. Bu trokarlardan da diğer çalışma enstrümentaları yerleştirilerek gerek diagnostik, gerekse cerrahi girişimler gerçekleştirilecektir.

2.1.2.13.1.TROKARLARIN YERLEŞTİRİLMESİ

Cerrah karın içine ulaşmak için tek yolun trokarlar olduğunu her zaman hatırdta tutulmalıdır. Trokarlardan maksimum surette verim alabilmek için karın içindeki havanın dışarı kaçmasını engellemek çok önemlidir (10). Yanlış yerleştirilmiş bir trokar kolay bir laparoskopik girişimi çok güçleştirebilir ve gereğinden fazla sayıda trokar hava gereksinimi çok artırabilir (13).

2.1.2.13.2.TROKARLARIN UYGULAMASINDA TEMEL KURALLAR

(10)

- 1- Karın içine aletlerin çarpışmasını engellemek için trokarlar birbirinden mümkün olduğu kadar uzakta olmalıdır.
- 2- Ek bir trokar yerleştirilmeden önce yerleştirilen trokarın kullanımı ve etkinliği hesaplanmalıdır.
- 3- Her operasyon için temel trokar yerleştirme düzeni kullanılmalıdır
- 4- Epigastrik arter sahası, ingunal kanal, kostal kenarlara trokar yerleştirilmemelidir.

- 4- Skopi trokarı her zaman ilk önce yerleştirilmelidir. Tüm diğer trokarların direkt video kontrolü altında yerleştirilmesi gerektiği için skopi trokarı çok önemlidir. Bir trokar sokulurken teleskopun ışığı ile karın duvarı aydınlatılır ve böylece herhangi bir damar yaralanmasından kaçınılır.
- 5- Daha önce ameliyat edilmiş bir karında şöyle bir teknik izlenebilir: Eski insizyona mümkün olduğu kadar uzak bir yerden 5 mm'lik trokar sokulur, buradan 30° açılı 5 mm'lik bir teleskop ile karın içi görülür. İkinci bir 10 mm. trokar direkt vizyon altında yerleştirilir ve 5 mm'lik teleskop 10 mm'lik teleskop ile değiştirilir.

2.1.2.14.FORSEPS VE MAKASLAR

Atravmatik ve grasping forsepsler cerrahi esnasında dokuyu stabilize etmek için oldukça önemlidir, farklı boyutlarda olanları vardır, 3 mm den 10mm çapa kadar değişen disposable veya reusable aletler kullanılabilir. Majör cerrahi bir operasyonu gerçekleştirmek için 2 grasping forseps, 1 travmatik forseps kullanımı yeterlidir (13). Makas laparoskopik cerrahın temel aletlerinden birisidir. Makas monopolar elektrocerrahi içinde kullanılabilir.

2.1.2.15.BİPOLAR VE UNİPOLAR ELEKTROKOTERLER

Bipolar sistem bipolar forsepsin bir ağzından (birinci elektrod) diğer ağzına (ikinci elektrod) dokudan geçen elektrik akımıdır. Bu sistemde elektronların yolu daima bilinir. Burada elektriğe bağlı yanık riski bundan dolayı yoktur (10). Koagülasyon dokuda ısı artışıyla sağlandığından dolayı istenenden daha fazla yayılan bir etki ile yanığa neden olma riski vardır. Bu nedenle enerji daima kısa aralıklarla uygulanmalıdır ve de zarar görebilecek dokulardan yeterli uzaklıkta uygulanmalıdır (10).

Unipolar elektrik potansiyel olarak tehlikelidir. Elektronların seyrettiği yollar bilinmediğinden dolayı sonuç olarak aktif elektrodan (makastan) uzakta elektriksel yanık riski vardır. Unipolar elektrocerrahi hem koagülasyon, disseksiyon için hem de koagülasyon için kullanılabilir. Koagülatif akım elektrik aktivitesinin aralıklı periyodlarıyla ve de hücrelerde dehidratasyon ve protein

koagülasyon neden olarak ve sonuç olarak hemostaz yapmayla karakterizedir (9). Kesici akım elektrotlarının devamlı akımıdır, hücre içi ısı hızla yükseldiğinden hücrenin patlamasına neden olarak etkisini gösterir.

2.1.2.16.LAPAROSKOPİDE LASER KULLANIMI

En sık kullanılan lazer CO2 lazerdir. Doku vaporizasyonunda, kesmede CO2 lazer etkilidir fakat koagulasyon için etkili değildir. Argon, Neodymium, lazerler özellikle iyi koagulasyona sahiptirler fakat vaporizasyon özelliği kötüdür (15). Lazer jeneratörler elektro cerrahi sistemlerden çok daha pahalıdır bu yüzden koter daha çok tercih edilmektedir (12).

2.1.2.17.ASPİRASYON VE YIKAMA SİSTEMİ

Kontrollü aspirasyon ve irrigasyon laparoskopik cerrahi esnasında, net bir görüş sağlamak için oldukça önemlidir (9). Bu yüzden diagnostik laparoskopik vakalarda bile aspirasyon irrigasyon sistemi hazırlamak gerekir. Yüksek basınçlı su ile (1200 mmHg üstü) hidrodiseksiyon doku tabakalarının ve mesafelerinin ayrılmasında da kullanılır (10).

2.1.2.18.LAPAROSKOPIK SÜTÜR ATILMASI

Endoloop laparoskopideki ligasyonlar içinde en eski kullanılan sistemdir. İki tane suture tekniği vardır. A) Extracorporal ve B) intracorporal. Ekstracorporal metot kolaydır, önce doku suture edilir, iğne trokardan çıkartılır suture ekstracorporal bağlandıktan sonra düğüm itici ile düğüm dokuya doğru itilir. İnteracorporal düğüm fragil dokularda ve de özellikle mikrocerrahi suturelerinde düşünmelidir. İnteracorporal sutureyi kolaylaştıran farklı teknikler vardır (11).

2.1.2.19.DOKU MORSELETÖRÜ

Elektronik ve manüel morselatör, myom veya uterus gibi büyük spesmenlerin çıkarılmasında kullanılır. Ayrıca karın içine bistüri taşıyan aletlerle de parçalama işlemi yapılarak spesmen küçültülebilir. İnterabdominal spesmenler vajinal olarakta douglastanda çıkarılabilir (16).

2.1.2.20.UTERİN MANÜPLATÖR

Laparoskopik cerrahi sırasında uterus ve adneksleri mobilize eden veya stabilize etmek için uterin manipülasyonun değişik sistemleri kullanılabilir. Hegar dilatörler tenakulum ile birlikte kullanılabilir (10).

2.1.2.21.LAPAROSKOPIK ALETLERİN STERİLİZASYONU

Temizleme, sterilizasyon ve bakımdan sorumlu hemşire eğitilmiş olmalıdır. Endoskopik aletlerin maliyetini ve ne kadar nazik olduğu bilmelidir. Cerrahiden önce operasyon odasının hazırlanmasında kamera ekipmanı, ışık kaynağı, CO2 tüpleri, irrigasyon aspirasyon sistemleri test edilmelidir. Bipolar koter sistemleri iyi bakılmalı ve test edilmelidir. Disposable enstrümanlarla ilgili olarak bu malzemeler mümkün olduğunca yeniden sterilize edilmelidir. Restrelizasyon disposable aletlerde daha fazla transmisyon riskine sahiptir (8). Reusable cerrahi aletler kolay temizlenir ve de restrelize edilir. Dekontaminasyondan sonra en küçük parça ve mesafeler suyla ve hava kompresi ile temizlenmeli ve kurulmalıdır. Lensler ve teleskoplar için alkol ve özel sabunlar kullanılmalıdır. En modern enstrümanlar 134°C de otoklavda sterilize etmek üzere dizayn edilmiştir (10).

2.1.2.21.1.KİMYASAL STERİLİZASYON

Genellikle glutaraldehit solüsyonunda teleskop ve diğer laparoskopik aletlerin bekletilmesiyle gerçekleştirilir. Bu solüsyonlarda 20 dk bekletildiğinde HBV, HCV ve HIV virüslerini inaktif etmek için yeterlidir. Tam sterilizasyon sağlamak için 10 saat bekletmek gereklidir. Fakat bu süre bazı enstrümanları tahrip edebilir. Preoperatif taramalarda HBV, HCV ve HIV virüsleri pozitif hastalar operasyon listesi dışında bırakılırsa, 20 dk glutaraldehit solüsyonu emniyetli bir sterilizasyondur (10).

2.1.2.21.2.OTOKLAV İLE STERİLİZASYON

Daha geniş kullanılan ve pahalı olmayan bir sistemdir. Plastik kısımları olan enstrümanlar otoklavda sterilize edilemeyebilir. Otoklavda sterilizasyon 121 °C de 21 dk yada 134°C de 7 dk dır (9).

2.1.2.21.3.GAZ STERİLİZASYON

Etilen oksit ile yapılan gaz sterilizasyon ideal sistemdir. Düşük ısısından ve endoskopik enstrümanlara zararlı etkisi olmadığından dolayıdır. Fakat bu teknik pahalı ve uzun zaman gerektirir (72 saat) (8).

2.1.2.22.JİNEKOLOJİDE LAPAROSKOPİNİN KULLANIMI

Jinekolojik laparoskopik cerrahi uygulamalar zorluk derecesine göre aşağıda sıralanmıştır (8).

Temel Operatif Laparoskopik İşlemler

Tubal Sterilizasyon

Biopsi

Hafif Derecedeki Endometriozis Koterizasyonu

Küçük Over kistlerinin aspirasyonu

Orta Zorlukta Operatif Laparoskopik İşlemler

Basit ve orta derecedeki adezyonların açılması

Orta derecedeki endometriozis koagülasyonu

Küçük over kistlerinin ekspolarasyonu

Uterus süspansiyonu

Salpenjektomi

Ekstensif Operatif Laparoskopik İşlemler

Salpingostomi

Ektopik gebelik nedeniyle salpingotomi

Yaygın adezyonların açılması

Orta veya ileri evre endometriozis odaklarının eksizyonu

Over kistlerinin enükleasyonu (Endometriozis, Dermoid)

Ooforektomi

Myomektomi

Tubal anastomoz

Appendektomi

Histerektomi

Pelvik ve paraortik lenfadenektomi

2.1.2.23.LAPAROSKOPİNİN KONTRENDİKASYONLARI

Laparoskopik cerrahiye kontrendike durumlar tablo 1a ve 1b'de (17) gösterilmiştir. Laparoskopi yapmanın hemodinamik ve solunum üzerine derin etkileri vardır ama sağlıklı genç hastalar iyi tolere edebilir. Acil vakalar, yaşlı veya akut ilaç tedavisiyle durumu kötüye gitmiş vakalar değişimleri kaldıramayabilir. Hemodinamik olarak, postural değişimler ve pnömoperiton basıncı, venöz dönüşü azalttığından dolayı atım hacmini ve kardiyak outputu azaltır. Yeterli preload varsa, bu etkiler çok ağır olmaz (17).

Postural değişimler ve pnömoperitonueman etkileri, diafragmayı yükselterek vital kapasiteyi artırır. Kas gevşetici ajanlar, abdomenin venöz dönüş baskısını azaltır. Kas gevşetici ajanların etkisiyle O₂ ve CO₂ hemeostasisini kolayca sağlayabilir (10).

Zaman ve tecrübe bazı kesin yapılamaz ameliyatları yapılabilir kılmıştır. Hipovolemik şok, değişken kan basıncı veya zayıf preload'a bağlı kardiyak yetmezlik kesin bir kontrendikasyondur. Bu durumdaki hastalar pozisyon vermenin veya insüflasyonun hemodinamik stresini tolere edemezler (17).

Ciddi kardiyak dekompanseasyon da bir kontrendikasyondur çünkü insüflasyon ve pozisyon verme, dekompanse kalbi irreversibl bir aritmi ve yetmezliğe götürebilir. Önceden geçirilmiş multipl ameliyatlar, barsağın yapışık bir ansının perforasyonu nedeniyle kontrendikedir. Barsağın preoperatif hazırlanması ve geliştirilmiş aletlerin kullanılması bu riskleri azaltabilir (10).

Tablo 1a: Laparoskopinin kesin kontrendikasyonları
1- Hipovolemik şok
2- Yaygın bağırsak distansiyonu ile intestinal tıkanıklık
3- Geniş pelvik veya abdominal kitle
4- Ciddi kardiyak dekompanseasyon
Tablo 1b: Laparoskopinin rölatif kontrendikasyonları
1- Septik peritonit
2- Önceden geçirilmiş multipl cerrahi operasyon
3- Obesite
4- Diafragma hernisi
5- Kronik pulmoner hastalık
6- Pozisyon vermeye intolerans

2.1.2.24.LAPAROSKOPİNİN KOMPLİKASYONLARI

Laparoskopik cerrahide nadir olsa da komplikasyon gelişebilir. Komplikasyon ihtimali cerrahın tekniği ve deneyimi, laparoskopik girişim nedeni olan patoloji, hastanın yaşı ve genel durumu ve gözden kaçmış kontrendike durumların varlığı ile ilişkilidir. Operatif laparoskopinin komplikasyonları Tablo 2'de (17) gösterilmiştir.

Laparoskopi cerrahi komplikasyonların görülmesi tekniğe ve cerrahın deneyimine göre değişir. Multisentrik çalışmaların sonucuna göre de komplikasyon oranı 3.2 /1000 - 5.2 /1000 arasında değişmektedir (10).

Komplikasyonlar erken veya geç olabilir. Prosedür esnasındaki erken komplikasyonlar belirlenirse laparoskopi veya laparotomi ile düzeltilebilir. Geç komplikasyonlar ise, kanama gibi prosedürden kısa süre sonra ortaya çıkanlar, veya bağırsak hasarı veya enfeksiyon gibi daha geç ortaya çıkanlar olarak sınıflandırılır (10).

TABLO 2: Operatif Laparoskopinin Komplikasyonları (17)

Operatif Laparoskopide Olası Riskler (1000 Hastada)	Görülme Yüzdeleri
Anestezi Komplikasyonları	
Anesteziden kaynaklanan	0.8
Kardiak arrest	0.2
Kardiak aritmiler	0.4
Başarısız işlem	
Başarısız laparoskopi	7.5
Başarısız abdominal insuflasyon	3.5
Yanıklar	
Barsak	0.5
Deri	0.3
Diğer	0.2
Direkt travma	
Barsak	1.8
Üriner traktus	0.2
Pelvik organlar	3.4
Kanama	
Karın cidarı	2.5
Pelvik damarlar ve tüp mezenteri	2.7
Pelvik yan damarlar ve over damarları	0.9
Barsak mezenteri	1.1
Enfeksiyon	
Karın cidarı	0.5
Pelvik	0.5
Akciğer	0.2
Üriner traktus	0.5
Diğer komplikasyonlar	
Göğüs ağrısı	0.3
Kaybedilen yabancı cisim	0.6
Laparoskopik işlem dışında nedenler	
Organ hasarı	2.6
Pulmoner embolizm	0.2
Derin ven trombozu	0.2
Diğer	0.8
Geç komplikasyonlar	0.1
Ölüm	0.1

2.1.2.23.1.POSTOPERATİF KOMPLİKASYONLAR

Diafragmanın CO2 irritasyonu sonucu postoperatif omuz ağrısı yaygın bir şikayettir ve ameliyattan önce hasta bu konuda bilgilendirilmelidir. İnsizyonel ağrı ve entübasyon sonucu boğaz yanması da yaygındır (18). Cerrah, her ne kadar küçük bir insizyonla gerçekleştirilse de, büyük operatif prosedürlerin, aynı açık ameliyat kadar ağrı yapabileceğini düşünmelidir (8).

Ağrı genellikle 26-48 saat içinde azalması gerekir ve ağrı hafiflemezse cerrahi üriyer veya gastrointestinal bir komplikasyon arama yönünden uyarmalıdır. İnterabdominal cerrahiden çok az sinir kökü etkilendiği için, nörolojik sekel nadirdir. Yanlış pozisyon verme veya uzun süreli Trendelenburg pozisyonu omuz ağrılarına sebep olabilir (18).

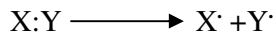
Laparoskopi sonrası ingunal herni oluştuğunu bildirenler vardır. Laparoskopik bir işlem sırasında böyle bir hernide bağırsakların boğulması şiddetli ağrılara ve 24 saat içinde bağırsak tıkanıklığı belirtilerine sebep olur. Sonuç olarak, ingunal herni laparoskopi sonrası ağrı, bulantı ve kusma olduğunda ayırıcı tanının bir parçası olmalıdır (10).

Laparoskopide komplikasyonlar nadir görölür. Laparotomi ihtiyacını önlemenin en iyi yolu, komplikasyonları önlemektir. Laparotomi gerekiyorsa bu bir başarısızlık kabul edilmemeli, aksine bunun cerrahi bir karar olduğu bilinmelidir (10).

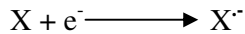
2.2.SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektronu (e^-) olan atom veya moleküllerdir. Ortaklanmamış e^- 'lerinden dolayı reaktiftirler. 3 şekilde meydana gelirler (19):

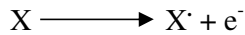
1- Kovalent bağlı bir molekülün homolitik bölünmesi sonucu her bir parçasında e^- 'lerinden birisinin kalması



2- Bir moleküle bir e^- 'un eklenmesi



3- Bir molekülden bir e^- 'un kaybı



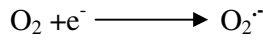
Biyolojik sistemde en önemli serbest radikaller, O_2 'nden oluşur. Mitokondride bulunan e^- transport sisteminde, O_2 proton alarak suya indirgenirken, taşınan e^- 'lar da O_2 ile birleşerek ROS oluşumuna neden olurlar (19). Fe^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış e^- 'ları olmasına rağmen serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat reaksiyonları kataliz ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemlidirler (19).

2.2.1.REAKTİF OKSİJEN ÜRÜNLERİ (ROS)

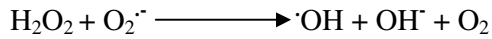
2.2.1.1.SÜPEROKSİD ANYONU (O_2^-)

Aerobik hücrelerde O_2 'nin bir e^- alarak indirgenmesiyle O_2^- meydana gelir. En fazla mitokondri, endoplazmik retikulum gibi hücresel e^- transport zincirinin komponentlerinden O_2 'e e^- sızması ile meydana gelir (19).

O_2 konsantrasyonunun arttığı durumlarda O_2^- oluşumu da artar. Mitokondriyal e^- transport zincirinde yer alan NADH-dehidrogenaz ve koenzim Q ya da ubikinon basamağında e^- sızması olur. e^- 'ların O_2 'ne taşınmasında sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi O_2 'nin % 98'ini harcayarak suya indirger. O_2 'nin % 2'si ise, transport zincirinden sızan e^- 'larla O_2^- oluşturur.

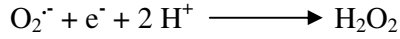
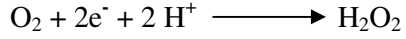


O_2^- , direkt olarak fazla zarar vermez. Ancak H_2O_2 'nin asıl kaynağıdır. NO ile birleşerek peroksinitriti oluşturur. Peroksinitrit, proteinlere zarar verir. O_2^- , düşük pH değerlerinde perhidroksil radikali (HO_2^\cdot) oluşturur. Ayrıca H_2O_2 ile reaksiyonu sonucu $^\cdot OH$ oluşumuna neden olur. Bu reaksiyona Haber-Weiss Reaksiyonu denir (20).

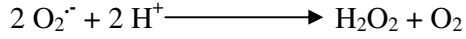


2.2.1.2.HİDROJEN PEROKSİT (H_2O_2)

O_2 'nin 2 e^- alması ya da O_2^- 'nin bir e^- alması sonucu peroksid oluşur. Peroksid molekülü 2 H^+ ile birleşerek H_2O_2 oluşturur (21).



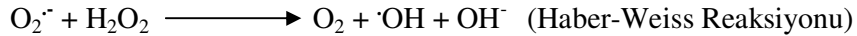
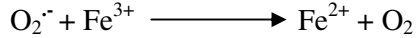
H_2O_2 , hücre membranlarını kolay geçer. Biyolojik sistemde $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin dismutasyonu ile oluşur. $2\text{O}_2^{\cdot-}$, 2H^+ alarak H_2O_2 ve O_2 oluşturur.



Dismutasyon ya spontan olarak ya da SOD enzimi ile katalizlenir. Özellikle spontan dismutasyon yavaş oluşur. Alkali ve nötral pH'da enzimatik dismutasyon daha belirgindir (19).

H_2O_2 , bir serbest radikal değildir. Eşleşmemiş e^- 'ları yoktur. Ancak $\text{O}_2^{\cdot-}$ ile birleşerek en reaktif radikal olan $\cdot\text{OH}$ oluşturmak üzere yıkılabilir. Bu reaksiyon Haber-Weiss reaksiyonudur. Fe ile katalizlenen reaksiyon daha hızlıdır.

Bu reaksiyonda önce Fe^{+3} , $\text{O}_2^{\cdot-}$ ile Fe^{+2} 'ye indirgenir. Fe^{+2} ile H_2O_2 birleşerek $\cdot\text{OH}$ oluşur. Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir (21).



2.2.1.3.HİDROKSİL RADİKALİ ($\cdot\text{OH}$)

H_2O_2 'nin geçiş metalleri varlığında indirgenmesiyle oluşur. Ayrıca Haber-Weiss reaksiyonu ile de oluşabilir. Son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Yarı ömrü çok kısadır (21).

2.2.2.SERBEST RADİKAL OLUŞUM NEDENLERİ (19)

1- Aktive olmuş fagositler (Respiratory Burst);

2- Radyasyon;

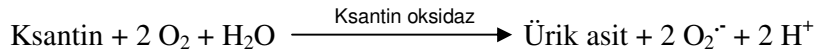
3- Alkol, uyuşturucu;

4- Çevresel faktörler (sigara dumanı, aromatik hidrokarbon,);

5- Cerrahi stres;

6- Mitokondriyal e⁻ transportu: Hücrelerde en büyük serbest radikal kaynağıdır. e⁻ transportu sırasında e⁻ sızması olur. Sızan e⁻'ların O₂'nü indirgemesi ile ROS meydana gelir;

7- Ksantin Oksidaz: Enerji azlığı ve artmış intrasellüler kalsiyum varlığında kalsiyuma bağımlı proteaz aktive olarak ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza dönüştürür. Ksantin oksidaz, ksantinün ürik aside dönüşümü sırasında O₂⁻ oluşumuna neden olur;



8- Hemoglobin yıkımı: Hem yıkımında görevli bir enzim olan Hem Oksidaz enzimi ROS oluşumuna neden olur;

9- Endoplazmik retikulum e⁻ transport sistemleri;

10- Peroksizomlarda bulunan oksidazlar: Bol miktarda H₂O₂ üretirler;

11- Araşidonik asit metabolizması: Lipooksigenaz ve siklooksigenaz, reaksiyonun katalizi sırasında ROS oluştururlar;

12- İskemi, travma, intoksikasyon.

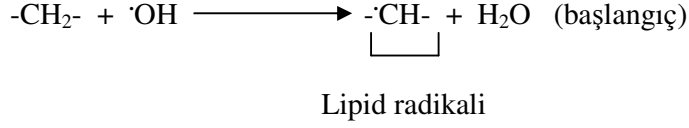
2.2.3.REAKTİF OKSİJEN ÜRÜNLERİNİN ETKİLERİ

ROS hücrelerin lipid, protein, karbonhidrat, enzim, DNA gibi tüm önemli bileşiklerine etki eder (20).

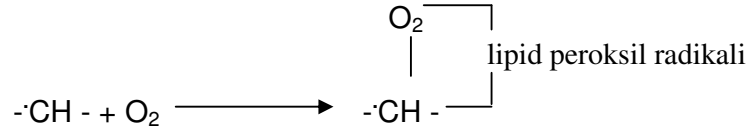
2.2.3.1.MEMBRAN LİPİDLERİNE ETKİLERİ: Lipid Peroksidasyonu

ROS'ne karşı en hassas bileşikler, lipidlerdir. Membranda bulunan yağ asitlerinin doymamış bağları, ROS ile reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Membranda oluşan peroksidasyon ürünleri membran hasarı oluşturur. Membran hasarı, geri dönüşümsüzdür (19).

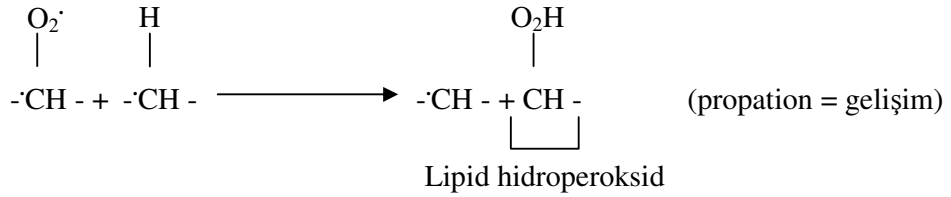
Lipid peroksidasyonu, zincir reaksiyonudur (19). ROS etkisi ile poliansatüre yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla başlar. Lipid radikali oluşur. İlk hidrojen atomunu çıkartan serbest radikaller; $\cdot\text{OH}$, $\text{RO}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$ ve $\text{HO}_2\cdot$ radikalleridir (19).



Lipid radikali, dayanıksız bir bileşik olduğundan değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle dien konjugatları ve lipid radikalinin O_2 ile etkileşimi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir (18).



Lipid peroksil radikalleri, diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerini oluştururken, aynı zamanda açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşürler (18).



Lipid hidroperoksitleri geçiş metallerinin katalizi ile yıkıldığında aktif aldehidler oluşur. 3 veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşur (19). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ve kantitatif bir göstergesi değildir. Fakat lipid peroksidasyonunun derecesi ile koreledir. Membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna yol açar.

Membran reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive ederek ciddi hasar oluşturur. İyon transportunu da etkileyebilir (19).

2.2.3.2.PROTEİNLERE ETKİLERİ

Proteinlerin ROS hasarından etkilenme derecesi aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Sülfür içeren aminoasitler ROS hasarından daha kolay etkilenirler (18). Sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur. Proteinlerde ROS hasarı olduğunda üç boyutlu yapıları bozulur. Normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. ROS hasarı birikmişse ve belirgin proteinlerin spesifik bölgelerinde yoğunlaşmışsa hücrenin bütünlüğü bozulur (19).

2.2.3.3.DNA'YA ETKİLERİ

DNA, ROS için önemli bir hedefdir (19). ROS, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açar. Sitotoksisite, DNA nokta mutasyonlarına neden olur. $\cdot\text{OH}$, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer. ROS hasarına uğrayan DNA daha antijenik özellik gösterir. Örneğin; sistemik lupus eritematozis ve RA hastalarında anti-DNA antikorları vardır (21).

2.2.3.4.KARBOHİDRATLARA ETKİLERİ

Monosakkaritler, ROS hasarına uğradığında H_2O_2 , peroksitler ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler, DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve çapraz bağ oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler (19).

2.3.ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

ROS'nin oluşumunu ve hasarını önlemek için vücutta savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlara antioksidan sistemler adı verilir (21).

Antioksidan sistemler ikiye ayrılır:

1- Ekzojen kaynaklı olanlar:

- a) İlaçlar
- b) Gıdalar

2- Endojen Kaynaklı Olanlar:

a) Enzimler

- SOD
- Katalaz
- Glutasyon Peroksidaz
- Glutasyon S transferaz
- Mitokondriyal Sitokrom oksidaz sistemi

b) Enzim Olmayanlar:

- E vitamini
- C vitamini
- Beta karoten
- Albumin
- Ürik asit
- Seruloplazmin
- Ferritin
- Transferin
- Laktoferrin
- Myoglobin
- Hemoglobin
- Bilirubin
- Glutasyon
- Sistein
- Metyonin
- Melatonin

Antioksidanlar etkilerini dört şekilde ortaya koyarlar (19).

1- *Toplayıcı Etki:* ROS'ni tutarak onları daha zayıf moleküllere dönüştürürler.

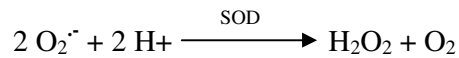
2. *Bastırıcı Etki:* ROS'ne bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltır veya inaktif şekle döndürürler.

3. *Onarıcı Etki:* Hasarlı molekülleri tamir ederler.

4. *Zincir Kırıcı Etki:* ROS'nin zincirlerini kırarak fonksiyon göstermelerini engellerler.

2.3.1.SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD)

$O_2^{\cdot-}$ 'nin, H_2O_2 ve O_2 'ne dönüşümünü katalize eder (20).



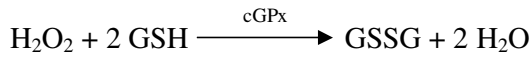
SOD'un görevi, hücreyi $O_2^{\cdot-}$ 'nin zararlı etkilerinden korumaktır. SOD aktiviteleri, yüksek O_2 kullanımı olan dokularda fazladır (21). SOD, granülosit fonksiyonu için de çok önemlidir. Fagosite edilmiş bakterinin öldürülmesinde rol oynar.

2.3.2.GLUTATYON PEROKSİDAZ (GPx)

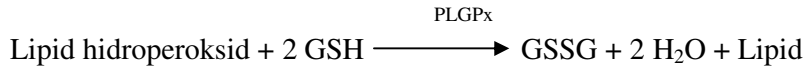
2 tip GPx enzimi vardır. Bunlar:

- 1- Sitozolik GPx (cGPx)
- 2- Fosfolipid GPx (PLGPx)

cGPx, hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumludur. Tetramerik yapıdadır. 4 selenyum atomu içerir. Sitozolik bir enzimdir.



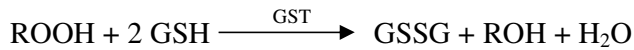
PLGPx enzimi ise, monomerik yapıdadır ve selenyum içeren sitozolik bir enzimdir. Membranda bulunan peroksidize olmuş fosfolipid ve kolesterolü direk indirgeyebilen tek bilinen antioksidan enzimdir. Membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar. Aktivitesindeki azalma, lipid hidroperoksidlerin artmasına ve hücre hasarına yol açar (21).



GPx, fagositlerde ve eritrositlerde H_2O_2 hasarını engellemek için önemlidir (21).

2.3.3.GLUTATYON-S-TRANSFERAZ (GST)

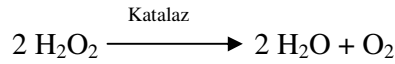
Başta araşidonik asit ve linoleik asit olmak üzere lipid hidroperoksidlerine karşı selenyum bağımsız GPx aktivitesi gösterir (21).



Glutasyon-S-Transferaz, ksenobiyotikleri glutatyondaki sisteine ait SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize eder ve suda çözünür hale gelmesini sağlar. Glutatyondaki glutamat ve glisin koparılarak sisteinin amino grubu asetillenir ve merkaptürik asite dönüştürülür. Merkaptürik asit, safra ile atılır (21).

2.3.4.KATALAZ

4 hem grubu bulunan hemoproteindir. H₂O₂'i su ve O₂'ne parçalar. Peroksizomlarda bulunur (20). Lipid hidroperoksidlerine etki etmez.



2.3.5.SİTOKROM OKSİDAZ

Mitokondrial oksidatif fosforilasyonda görevli enzimdir. Fizyolojik şartlarda sürekli oluşan O₂^{-•}'nu ortadan kaldırır (19).



2.3.6.C VİTAMİNİ (ASKORBİK ASİT)

C Vitamini, enediol yapısında lakton şeklinde bir asittir. 2. ve 3. karbonlarının meydana getirdiği enediol yapısı vücutta dehidro şekline kolayca dönüşebildiği için bir indirgendir.

Güçlü indirgeyici aktivitesi nedeniyle güçlü bir antioksidandır. O₂^{-•} ve [•]OH ile etikleşerek onları temizler (21).

2.3.7.E VİTAMİNİ

Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka, antioksidan aktiviteden sorumludur. Membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerinin ROS hasarından korunmasında ilk savunma sistemidir (20).

2.3.8.BETA KAROTEN

Beta karoten, A vitamininin metabolik ön maddesidir. A vitamini aktivitesi, retinölün ancak altıda biri kadardır. İncebağırsakta parçalanır ve 2 molekül retinal oluşur. İnsanlarda bu dönüşüm etkin değildir (20). Beta karotenin 1O_2 'i bastırıldığı, $O_2^{\cdot-}$ 'nu temizlediği gösterilmiştir.

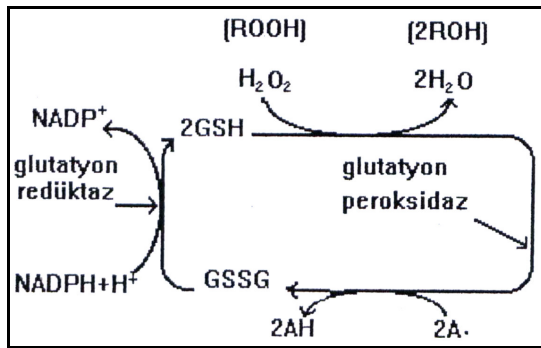
2.3.9.MELATONİN

'OH'ni ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Lipofilik olmasından dolayı hücre çekirdeğine girebildiği için DNA'yı oksidatif hasardan korur (21).

2.3.10.GLUTATYON (GSH)

Karaciğerde sentezlenen bir tripeptiddir. Hücre içi konsantrasyonu 0,5 mM olup, 10 mM konsantrasyona kadar da ulaşmaktadır (19). GSH, redükte tiyol grubu ve peptidaz ataklarına dirençli gama glutamil bağı ile karakterizedir. Karaciğerde sentezlenir (19). GSH, proteinlerdeki sülfidril gruplarını redükte halde tutar. Oksidasyona karşı korur. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasarı engeller. Hidroksil ve karbon radikalleri ile birleşir ve H^+ atomu verir (19).

Böylece ROS hasarının esas kaynağı olan 'OH nötralize edilmiş olur. GSH, bu reaksiyon sırasında okside glutatyona dönüşür. Okside glutatyonun indirgenmesini GSSGR enzimi sağlar. Bunun için NADPH gereklidir (Şekil 1). GSH, eritrosit membranının oksidatif hasardan korunmasında da hayati öneme sahiptir.



Şekil-1: Glutatyon redoks sistemi (20)

2.3.12.SİTOKİNLER

Sitokinler, hücreler arası iletişimi sağlayan peptid mediatörlerdir. Enfeksiyon hastalıklarında ve immün yanıtın oluşumunda rol oynarlar (22). Sitokinlerin, cerrahi strese ve travma enfeksiyon gibi organizmayı zarara uğratabilecek inflamatuvar ve immünolojik tepkileri başlatma ve düzenleme görevleri vardır (23). Daha çok inflamatuvar hücreler tarafından üretilen sitokinler, hücrelerin metabolizması ve büyümelerini lokal olarak etkilerler (23).

2.3.11.1.İNERLÖKİN-6 (İL-6)

İL6, protein yapısındadır. İL-6, doku hasarının erken bir habercisi olarak kabul edilir (23). İL-6'nın hücre kaynakları, T lenfosit, B lenfosit, monosit, makrofaj, endotel hücresi, epitel hücresi, fibroblast ve mast hücresidir. İn vitro olarak mezotelyal hücreler tarafından üretildiği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (24). Ayrıca, yapılan çalışmalarda mezotelial hücrelerdeki İL-1 ve TNF- α tarafından İL-6 salgılanmasının artırıldığı gösterilmiştir (23). İL-6'nın etkilediği hedef hücreler, T lenfosit, B lenfosit, hepatosit, endotel hücresi, keratinosit, hematopoetik hücre ve malign plazma hücresidir (21).

Biyolojik etkileri:

- 1- B lenfosit büyüme ve farklılaşmasını sağlar.
- 2- Makrofaj farklılaşmasını sağlar.
- 3- T lenfosit proliferasyonu ve farklılaşmasını sağlar.
- 4- Adrenokortikotropin hormon ve kortizol salınımını artırır.
- 5- İL-1 ve TNF- α salınımını artırır.
- 6- Akut faz proteinlerinin üretimini artırır.
- 7- Hematopoezisi uyarır.
- 8- Trombopoetik faktör gibi megakaryositlerin maturasyonunu artırır.
- 9- Mezengial hücre büyümesini artırır.
- 10- Nöral farklılaşmayı sağlar. Nerve growth faktör üretimini artırır.

2.3.11.2.TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR

Monosit ve makrofajlardan salınan protein yapısında bir sitokindir. TNF- α ve tümör nekrozis faktör- β (TNF- β) olmak üzere 2 tipi vardır (21). İn vitro deneyler, TNF- α nın peritoenal alanda fonksiyonları olduğunu göstermiştir (23). İn vitro olarak, mezotelial hücre kültürlerinde interlekinlerin (İL-1 α , İL-1 β ve İL-8) artışını başlatır (25, 26).

TNF- α , adezyon moleküllerinin mezotelial hücrelerdeki ekspresyonunu artırır (27). TNF- α , abdominal dren sıvısında ölçüldüğünde, ameliyat sonrasında artış göstermiştir (28). TNF- α 'nın insanlardaki adezyon gelişimindeki önemi henüz daha aydınlanmamıştır, çünkü TNF- α ait nötralize edici antikörlerin kullanıldığı bir çalışmada hayvanlardaki adezyon oluşumunu azaltmada başarısız olduğu gösterilmiştir (29).

TNF- α 'nın biyolojik etkileri (21).

- 1- Endotel hücresinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır.
- 2- Nötrofilleri aktive eder.
- 3- IL-1, IL-6, TNF- α gibi sitokinlerin sentezini stimüle eder.
- 4- Virüslere karşı interferon gibi koruyucu etkileri vardır.
- 5- Prostaglandin sentezini artırarak endojen pirojen etki oluşturur.
- 6- Kollajen sentezini inhibe eder. Yüksek konsantrasyonda kollajenaz sentezini stimüle eder.
- 7- Akut faz protein sentezini artırır.
- 8- Koagülasyon sistemini aktive eder.
- 9- Lipoprotein lipaz aktivitesini inhibe eder.
- 10- Birçok normal ve transforme hücre tipinde apoptozise neden olur.

2.4.LAPAROSKOPİK CERRAHİYLE OLUŞAN OKSİDATİF STRESS

Oksidatif stress ROS'lar gibi oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengesizliği ifade eder (30). Bu dengesizlikten oluşan oksidatif strese organizmada herhangi bir alanda bulunan lipid, protein veya nükleik asitten oluşan herhangi bir hücresel yapıyı zedeleyebilir (31). Yapılan çalışmalarda

oksidatif stresin yalnızca bir gösterge olmadığı (32), aynı zamanda doku hasarlarına yol açarak, karaciğer (33,34) ve böbreğinki (35, 36) de dahil olmak üzere, birçok organın fonksiyonlarının etkilendiği bir süreç başlattığını ortaya koymuştur (37).

Postop dönemde immun sistemin şiddeti cerrahi müdahalenin boyutları ile direkt olarak ilgilidir (38). Bu yüzden, immun sistemin laparoskopik müdahalelerden sonra, geleneksel uygulamalarla karşılaştırıldığında, daha iyi korunuyor olduğu çalışma verilerinde görülmekteyse de (38) laparoskopik hakkında yapılan son çalışmalarda dikkatler immun sistemin laparotomiye kıyasla laparoskopik cerrahide daha iyi korunup korunmadığına odaklanmış durumdadır (39). Bu konuda birbirini desteklemeyen çalışma sonuçları mevcuttur (39).

Şu ana kadar laparoskopinin oluşturduğu oksidatif stres etkisini ortaya koymak için rat ve tavşan modelleri kullanılmış ve in vivo deneysel uygulamaları yapılmıştır (2, 30, 37, 42-51). Laboratuvar hayvanları insanlardan çok daha küçük olduğundan, daha düşük ve artırılarak uygulanan karın içi basınçlara daha çok duyarlıdırlar (3). Oksidatif stresin laparoskopik ile oluşum mekanizmasını inceleyen çok az klinik çalışma mevcuttur.

Peritoneal tepkinin laparoskopik ameliyatlarda, geleneksel açık ameliyatlardan farklı olduğu öne sürülmektedir (51). Yapılan araştırmalar, oksidatif stresin laparoskopik cerrahideki Pp işleminden kaynaklandığını öne sürmektedir (2, 3, 23, 30, 37, 42-44, 51-54). Laparoskopinin neden olduğu oksidatif stresi anlatan çeşitli bilimsel yazılar literatürde mevcuttur ancak bunun mekanizması hakkındaki görüşler net olarak ortak bir noktada buluşmuş değildir (2, 42, 55).

Laparotomi uygulanan vakalarda operasyon yapılan ortamdaki hava ile ilgili faktörlerin periton ile teması, immünolojik sistemde etki oluşturmakta olduğunu öne süren yayınlar vardır (51). Çalışma verileri, bir hücre gram negatif

mikrop bileşimini meydana getiren lipopolisakaridlerin yaklaşık olarak $1\mu\text{m}^3$ konsantrasyonda atmosferde her yerde ve her zamanda mevcut olduğunu göstermiştir (51). Tanımlanan bu lipopolisakarid maddeler ve endotoksinler temas ettikleri hücrelerde sikloksijenaz yollu aracılığıyla sitokinlerin (TNF- α , İL6,...vb) üretme ve salınmalarını uyarmaktadır (51). Çalışmalarda ortaya konulan bu bulgular laparoskopik cerrahinin immünolojik sisteme etkisini incelenen çalışmalarda katkı sağlamıştır.

Araştırmacılar, şimdiye kadar laparoskopinin immün sisteme etkisini ortaya koymak için serum sitoksin dolaşımı ile akut faz proteinlerini (56, 57), lökosit fonksiyonlarını ve gruplarını, peritoneal makrofaj fonksiyonlarını (58-60), sabit doku makrofajı olarak karaciğer kupffer hücre aktivasyonlarını (39) ve gecikmeli-tip hipersensitivite tepkisini (61) ve tümör yayılımını konularını incelediler (62-66). Yapay ortamda karbon dioksit (CO₂) kültürlenmiş makrofajlar, endotoksin ile stimüle edildiğinde Tümör Nekrosis Faktör (TNF- α) ve İnterlökin-6 (İL-6) üretimini azalttığını öne süren bir yayın mevcuttur (67). Yapılan başka bir yayında peritoneal makrofajlar, CO₂ periton havası sırasında, laparotomi veya hava laparoskopisinden daha az aktive edilmişlerdir (68).

Karaciğer akut faz ana mediyatoru olarak (69), İL-6 doku hasarlarının hassas ve öncül bir markeridir çünkü dolaşımdaki İL-6 seviyeleri cerrahi travma ve buna bağlı cerrahi stresle orantılıdır (70). Bir çok araştırmacı İL-6'nın serum seviyelerinin laparoskopik kolesistektomiden sonra, geleneksel laparotomiye kıyasla, düştüğünü göstermiştir (66). Bu konuda İL6 seviyesi hakkında farklı sonuçlar bulan yayınlarda mevcuttur (71).

Laparoskopik cerrahide, sıklıkla CO₂ ile şişirme metodu kullanılarak, operatif gözlem sağlayacak bir alan oluşturulur. Bu durum ve yapılan çalışmaların sağladığı bulgular bazı araştırmacıların, intraperitoneal immün sistemin baskılanmasından CO₂ gazını sorumlu tutmalarına neden olmuştur (38).

Araştırmacılar CO₂'nin, batın içi sıvısında karbonik asite donüştüğü için immun sistem ve oksidatif stres değişimiyle ilgili olarak CO₂'in insuflasyonuyla beraber pH'in duşuşünün üzerinde durmakta ve peritoneal boşluğunun fizyolojisinde var olan biyokimyasal ve hücresel bağışıklık fonksiyonlarını etkilenmesini bu pH'in duşuşüne bağlamaktadırlar (18, 38).

Bunun yanında Bentes de Souza ve arkadaşları in vivo şartlarda yaptıkları iyi planlanmış bir çalışmada, insan periton mezotelial hücreleri üzerine yapılan 4 saatlik He gazı maruziyetinin ortam pH'ını artırarak alkali bir ortam oluşturduğunu bu durumda da beklenenin aksine daha çok oksidatif stres oluşturduğunu ortaya koymuşlardır (48). West ve arkadaşları hayvansal deneklerde CO₂'nin peritoneal makrofajların fonksiyonlarının azaldığını göstermişlerdir (60). Carozzi ve arkadaşları farklı olarak pH artışının makrofajlarda sitokin salgılanmasını sınırlandırdığını ileri sürdükleri yayınlarında pH'te 5.5'e karşılık, 7.4'e inkübe edilen insan makrofajlarının sitokin spontan salınımında bir duşuş göstermiştir (58). Mahiout ve arkadaşları laktatin, piruvik asit tuzuna kıyasla, insan dializ hastalarından alınmış olan peritoneal makrofajlardan, lipopolisakarid (LPS) uyarılmış sitoksin salınımını önlediğini göstermiştir (59). Tüm bu çalışma sonuçlara rağmen batın içi pH değişiminin inflamasyon oluşturmadaki payı net bir tanımlanmamıştır.

Laparoskopik cerrahinin yaptığı immun sistemdeki değişiklikler hem hücresel hem de humoral bağışıklık düzeyinde gerçekleşmektedir (D16). Laparoskopik cerrahiyle laparotomik operasyonların karşılaştırılmasını değerlendiren yayınlarda CRP ve İL6 gibi akut faz proteinleri laparotomi sonrasında, laparoskopik cerrahiye nazaran daha belirgin olarak artığı gösterilmiştir (56, 57). Farklı olarak hem lökosit sayıları hem de alt gruplarının laparoskopi sonrasında laparotomiye göre belirgin derecede artığı bildiren yayınlarda bulunmaktadır (57). Bir yayında laparoskopi ve laparotomi karşılaştırması sonucunda CD4 ve CD8 gibi lenfosit alt gruplarının da laparotomik operasyonlarda belirgin azaldığı gösterilmiştir (72).

Yapılan bir çalışmada CO₂'de kültürlenmiş makrofajlar, endotoksin ile stimüle edildiğinde TNF- α ve IL-6 üretimini azaltmıştır (67). Başka bir çalışmada peritoneal makrofajlar, CO₂ periton havası sırasında, laparotomi veya hava laparoskopisinden daha az aktive edilmişlerdir (68).

Yine bir grup araştırmacı ise postoperatif immünolojik fonksiyonların laparoskopik cerrahide daha iyi korunduğunu bildirmesine karşın, başka bir grup ise herhangi bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir (23, 61, 73). Bir çalışmada laparoskopi sonrasında immun sistemin daha fazla baskılandığını bildirilmiştir (74).

Bentes de Souza ve arkadaşları laparotomiye kıyasla laparoskopik yaklaşım, peritoneal 8-isoPGF₂ α düzeylerini bariz ölçüde artırdığını göstermişler (51).

Laparoskopik cerrahideki pnömoperitoneumun sağlandığı abdominal kaviteyi oluşturan parietal ve viseral peritonu kaplayan tek kat mezotelial hücre katmanlarının immünolojik etkileşim mekanizmalarında önemli görevi vardır (23). Mezotelial hücreler, peritoneal inflamatuvar tepkinin başlaması ve lökositlerin fonksiyonlarını (75) ve fibrinoliz işlemlerini düzenlediğini (76) ortaya koyan çalışmalar batın içi immun sistemde mezotelial hücrelerinde etkisinin olduğunu ortaya koymuştur. Peritoneal boşluk mekanik bir temizleme sistemi (abse oluşumu, doğal katil hücreler, polimorfonükleer nötrofiller ve makrofajlar, diafragma boşluklar) ve hem T ve B hücre lenfositleri aracılıklı spesifik bağışıklık sistemi tarafından korunmaktadır (77).

Laparoskopik cerrahideki pnömoperitoneum peritoneal savunma sistemine iki farklı yoldan etki oluşturmaktadır (51). İlk etki peritoneal boşluğun mekaniksel distansiyonu ile alakalıdır. Laparoskopik ameliyat sırasında bütün karın içi boşluğu gaz ile basınç altında olmaktadır, ki bununda bütün peritoneal alanda gerginlik oluşturma etkisi vardır (51). Mekanik distansiyon peritoneal mikrodolaşımda belirgin bir düşüşe neden olur. Nasogastrik basınç ölçümü

kullanılan bir incelemede, seçilmiş laparoskopik kolesistektomi geçiren sağlıklı hastalarda, normal periton havası basınçlarında bile (12-15 mmHg) belirgin splanik mukozal iskeminin olduğunu göstermiştir (51). Deneysel veriler, yüksek karın-içi basınçtan dolayı (15 mmHg) oluşan yüzeysel periton tabakalarındaki kapiller dolaşımının kompresyonunun iskemi oluşturup ROS yaratılmasına yol açtığını göstermektedir (51).

Pp'da %100 CO₂'a veya %100 helyuma maruz kalmak, laparoskopik cerrahi sırasında lokal inflamatuvar tepkiyi engelleyen sitozolik asidifikasyona neden olur (60). Standart CO₂ 'nin insüflasyonu, Pp süresinin uzunluğuna, kullanılan gazın miktarına ve gaz akış hızına bağlı olarak karın içi gaz ısısını belirgin olarak düşürür (78). Bu ısı kaybı, buharlaştırıcı bir soğutma işlemine neden olur ve bu da hipotermi ve buna bağlı organ kurumasına yol açar (79). Kuruma, mezotelyum hücrelerinin ve altında kalan bağ dokusunun bozulması da şiddetli peritoneal hasarlanmayı başlatır (80). Bu yüzden, standart CO₂ insüflasyonu peritoneal yüzeyde ve batın içi organlarda oluşan kuruma, laparoskopik oksidatif stres oluşumundaki suçlanan kaynaklardan birisidir (48,51).

Sonuçta süreçte rol oynayan mekanizmalar belirli olmamakla beraber, araştırmacıların çoğu tarafından laparoskopik cerrahide oksidatif stresin nedeninin ve şiddetinin karın için basınç ve/veya kullanılan gaz ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (48).

ROS'lar bir çok bozukluğun patojenine, iskemi (81), sigara içme (82) ile bağlantılı hastalıklar, enflamatuvar hastalıklar(58) ve yapışma oluşumu gibi, dahil edilmişlerdir (51). Reaktif oksijen türleri (ROS) hücre zarını etkileyerek araşidonik asitten oksidatif stres markerlarının oluşmasını sağlarlar (51). ROS'lar geniş bir yelpazede hücresel yapı ile etkileşebilirler (51). Amino asitleri okside edebilirler, DNA'ların pürin ve pirimidin temellerinde halka kırılması ve kimyasal değişimlere yol açabilirler ve zincirleme lipid peroksidasyon reaksiyonunu başlatan lipid hücre zarına saldırabilirler (51).

ROS uygunsuz uzaklaştırılması ve/veya yüksek miktarda oluşları, metabolik bozukluklara ve hücrel hasara yol açabilen, oksidatif stres ile sonuçlanır (51). Hipoksi-reoksijenasyon esnasında üretilen ROS'un iki ana kaynağı olduğu düşünülmektedir: Xsanthine oksidaz ve mitokondriyal solunum zinciri (48). Hipoksi esnasında, ATP yıkımı pürin metabolit hipoksantin birikimiyle sonuçlanır ve enzim Xanthine Dehidrojenazı, Xanthine Oksidazına dönüşür (83).

Normoksik koşullarda hipoksantin, serbest radikaller üretmeksizin, Ksantin Dehidrojenaz tarafından ksantin ve ürik aside dönüştürülür (48). Ksantin oksidaz, aynı reaksiyonu katalize eder, ancak elektron akseptörü görevi gören moleküler oksijenin varlığında, süper oksid radikalleri meydana gelir (84). Hipoksi ayrıca, oksidatif fosforilasyonu durma noktasına getirir, böylece aerobik ATP sentezinin baskılar (48). Bu durum, mitokondriyal taşıyıcılarını (ubiquinone) daha da azaltır, ki bunlar sonra solunum zincirinden elektron sızmasına neden olup ROS üretimine neden olacaktır (85). Bu elektronlar, iç mitokondriyal zar içinde hapsolünmüş atık moleküler oksijen ile reaksiyona girerler ve süper oksid radikallerin oluşumuyla son bulurlar (48, 86). Oksijenin yeniden verilmesi mitokondriyi tekrar canlandırır, ancak ADP'nin yokluğundan dolayı Sitokrom Oksidazı yoluyla elektron dışı kaçı azalmıştır. Sonuç olarak, elektron akışının oranı daha da artarak moleküler oksijenle daha fazla reaksiyon oluşumuna imkan tanır ve süreç nihayetinde süper okside radikallerin oluşumuyla son bulur (48, 86).

2.5.LAPAROSKOPİK İSKEMİK REPERFÜZYON HASARI

Laparoskopi iskemik reperfüzyon hasarı (LİRH), Pp sırasında uygulanan gaz insüflasyonunun belirgin bir şekilde splanik organlarda kansızlığa yol açar (85, 87, 88) ve bu iskemi zemininde ROS'lar oluşur. Paradoksal olarak Pp'dan sonra uygulanan desüflasyondan sonra iskemi sonrası oluşan reperfüzyon ROS'ların etrafa yayılmasını sağlar, bu durum etraf dokularda hücrel düzeyde hasarlanma meydana getirir. Reperfüzyonla tetiklenen bu patofizyolojik süreç LİRH'dır.

Yapılan çalışmalar normal vena porta basıncının (7-10 mmHg) üstünde olan İAB'ın karaciğer, böbrek ve bağırsaklardaki dolaşımı belirgin bir düşüşe sebep olduğunu göstermiştir (16, 89-91). İskemik reperfüzyon hasarının D ile iç organlardaki perfüzyonun sağlanmasının, dokulardaki oksidatif stresi ortadan kaldırmayacağını (43) aksine, kan akışının sağlanması sonucunda artan reaktif oksijen radikalleri (ROS) sebebiyle ortaya çıkan oksidatif stressin, organlarda oluşan yetersizliğine katkı eden mekanizmalardan biri olduğunu ortaya koyan bir çalışma mevcuttur (7).

LİRH, önceki hipoksik ve metabolik olarak antioksidanların aleyhindeki oksidatif streste dokulara, reperfüzyonla beklenmedik zamanda gelen ROS'ların etkisiyle oluşan ve dokulara sonradan eklenen oksidatif stresi darbesidir.

2.6.İSKEMİK PREKONDİSYON

İskemik prekondisyon (İP), bir dokunun kısa vasküler oklüzyon sürelerine önceden maruz kalması yoluyla uzun süreli iskemi ve reperfüzyonunun (I/R) zararlı etkilerine dayanıklı duruma geldiği süreçtir (92). İskemik prekondisyonun etkisi ilk olarak kalpte yaklaşık 20 yıl önce (92) görülmüş ve o zamandan beri yoğun bir araştırma konusu olmuştur (93). O zamandan beri yapılan tüm çalışmalar, iskemik prekondisyonun kısa süreli I/R döngülerini takip eden şiddetlenmiş iskemik reperfüzyon hasarına karşı direnç oluşturabilen, bir endojenik koruma mekanizması olduğu temelin de toplanmıştır (7, 95).

Tıp dünyasında kabul gören “İP uzun süreli iskemi ve reperfüzyonun (I/R) yok edici etkilerini önler.” (93) yargısı araştırmacıları İP'nun farklı organlardaki etkilerini tanımlamaya, iskemi ve reperfüzyon periyodlarının uygulama zamanlamasını belirlemeye, İP'nun olası biyokimyasal ve moleküler mekanizmalarını incelemeye yönlendirmiştir. Çalışmalarda uygulanan iskemi/reperfüzyon süreçleri farklı zamanlarda ve tekrarlarla uygulanmıştır. Ancak yayınlarda IP genellikle 5-10 dakika geçici organ kansızlığı ve bunu takiben 5-10 dakika reperfüzyon olarak yer almıştır (96-98).

Reinheckel ve arkadaşları bir fare modelinde, 10 dakikalık iskemi sonrası 5 dakikalık reperfüzyon zamanlamasıyla ortaya konulan, iskemik prekondisyon süreci sonrasında oksidatif stres markeri olan karbonillerin, karaciğer hücresi mitokondrial proteinlerinde tespit edildiğini göstermiştir (99).

Çalışmalarda İP'un iskemik reperfüzyon hasarı veya uzun dönem hipoksik şartlara dokuları dirençli hale getirdiği ortaya konulsa da bu sonucu doğuran mekanizmalar net olarak tanımlanamamıştır (100). İP olası mekanizmasını tanımlamak için şu ana kadar P- selektin ekspresyonu (93), lökosit adezyon ve migrasyonu (101, 102), adenozin (103, 104) ve protein kinaz C (103, 105-107) adenoze reseptörleri (93) ATP bağımlı K kanalı (108, 109) endojen opioidler ve reseptörleri (45, 110, 111) hakkında çalışmalar yapılmıştır. Bunun yanında İP'nu, farklı organlar ve dokularda etkisini ortaya koymak için kalp (93, 106, 112), koroner arter (113), beyin (104), akciğer (114), karaciğer (95, 96), böbrek (92, 115), iskelet kasında (116), incebarsak (42, 45, 93) dokusunda araştırmalar yapılmıştır.

Tüm bu yayınlara rağmen gelinen noktada İP'nun halen net olarak ortak bir etki mekanizması ortaya konulmuş değildir. Şüphesiz moleküler tıp gelişimi ile yapılacak çalışmalardan elde sonuçlar İP mekanizmasını tanımlamamıza yardımcı olacaktır.

2.6.1.LAPAROSKOPIK İSKEMİK PREKONDİSYON

Yılmaz ve arkadaşlarının İP hakkında yapılan çalışmaların doku koruyucu etkilerinden esinlenerek ortaya koyduğu bu laparoskopik modelinin (42); dayanak noktası, IAB değerlerinin vena porta basıncı normal değerlerinin (7-10 mmHg) üstüne çıktığında, bunun karın-içi organlarda geçici organ kansızlığına yol açtığını ve bunun D dan sonra normale döndüğünü (95, 117) gösteren çalışmalar olmuştur.

Bu modeldeki amaç, laparoskopik cerrahide kullanılan Pp'dan kaynaklanan splanik organların belirgin lokal ve sistemik hemodinamik

değişimlerinin (85, 87, 88, 117, 118) negatif etkilerini hafifletmek ve ortadan kaldırmak idi. (42)

Çünkü yapılan çalışmalar Pp'un belirgin bir şekilde splanik organlarda kansızlığa yol açtığını (85, 87, 88) ve bunu periton havasının boşaltılmasından sonra (D) sonra paradoksal olarak artan iskemik reperfüzyon hasarının takip ettiğini (87) göstermişlerdir.

Yılmaz ve arkadaşları bu sonuçlara göre laparoskopik cerrahide klasik olarak uygulanan P (P dolayısıyla oluşan splanik organların iskemisi) ve D (D dolayısıyla oluşan reperfüzyon) bir iskemik/reperfüzyon modelidir fikrine dayanarak süreçteki ardı sıra uygulanan P ve D (yani iskemi/reperfüzyon döngüsü) periyodunu esas cerrahi operasyon öncesinde kısa bir dönemde uygulandıktan sonra, esas operasyonun uzun sürecindeki iskeminin oluşturduğu oksidatif stres yükünden ve peşi sıra gelen iskemik reperfüzyon hasarından koruyucu etkilerinin sağlayabileceği fikrini ortaya koymuşlar ve bunu ilk olarak bir laparoskopik rat modeline uyarlamışlardır (42).

Yılmaz ve arkadaşları laparoskopik rat modeline uyarladıkları ilk LİPKM'un dokularında oksidatif stressi azalttığını gösterdiler (42). Aynı ekibin yaptıkları başka bir rat modeli çalışmasında LİPKM'sının manevrasının böbrek ve karaciğerdeki Pp'un yaptığı mekanik hasarlanmayı ve oksidatif stress hasarını azalttığını gösterilmiştir (37).

Cevrioğlu ve arkadaşları laparoskopik bir rat modelinde tanımladıkları laparoskopik İP'nun (10 dk. Pp sonrası 10 dk.) D) kontrol grubuna benzer bir oksidatif strese oluşturduğunu ve hatta eritrositlerde ve peritoneal dokuda ölçülen oksidatif hasarın düşük basınç uygulanan gruptan bile daha düşük olduğunu bulmuşlardır (43).

III.MATERYAL VE METOD

Bu çalışma deneysel, randomize, kontrollü bir çalışma olarak planlandı. Planladığımız çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu tarafından (B.30.2.AKÜ.0.8Z.00.00/109) etik onayı alındı ve 15 Temmuz 2005-15 Şubat 2006 arasında uygulanan deneysel çalışmamız Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi.

3.1.DENEKLERİN ÖZELLİKLERİ

Ağırlıkları 3000 – 4000 gram arasında olan 36 beyaz Yeni Zellanda cinsi erişkin, erkeklerden izole edilmiş dişi tavşan çalışmaya alındı. Tavşanlar Refik Saydam Hıfzısıha Enstitüsünden temin edildi. Hayvanlar standart laboratuvar koşulları altında 20-25°C'de %40-70 izafi nemlilikte ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklusu içinde kendileri için özel hazırlanmış kafeslerde havalandırılmalı ortamda tutuldular.

Gıda olarak standart tavşan yemi (Afyon Yem Gıda Sanayi, Afyon Türkiye) ve musluk suyu kullanıldı. Tavşanlar, cerrahi müdahale öncesinde yiyecek içeceği diledikleri anda ulaşabiliyorlardı. Deney, ABD Ulusal Sağlık Enstitüsünün 1996 yılından onaylanan laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı adlı rehberine uyumlu olarak yapılmıştır.

3.2.DENEKLERİN RANDOMİZASYONU

Hayvanlar temin edilip çalışma laboratuvarına getirildiğinde, rasgele olarak numaralandırıldı (boyunlarına numara yazılmış kolyeler takıldı) ve numara sıralaması dikkate alınmadan 4'erli gruplara ayrılarak önceden hazırlanmış kafeslere alındılar. Deney yapılacağında kafeslerden rasgele alınan hayvanların taşıdıkları numaralar dikkate alınarak kayıtları tutuldu. Alınan doku örnekleri biyokimya ve patoloji laboratuvarlarına numaralandırılmış bu kaplarda gönderildi. Ancak laboratuvar hekimlerinin hangi numaralı deneğin hangi gruptan olduğu konusunda bilgileri yok idi. Laboratuvarlarda bulunan sonuçlar bu numaralar üzerinden kaydedilerek verildi.

3.3.ANESTEZİ VE HEMODİNAMİK TAKİP

Cerrahi uygulama yapılacak laboratuvar uygulama sırasında hayvanların ısı kaybını önlemek bir ısıtıcıyla ısıtılarak sıcaklığı 20-25 C° arasında tutuldu ve cerrahi uygulama antisepsiye dikkat edilerek uygulandı. Laboratuvara alınan deneye başlangıçta intramuskular (i.m.) ketamin (50 mg/kg, Ketalar®; Eczacıbaşı-Werner Lambert, İstanbul-Türkiye) enjekte edildi. Ketamin etkisi başlayıp hareketsiz kalan tavşanların elektronik bir tartıyla tartılarak kiloları kaydedildi. Laparoskopik manüplasyonu kolaylaştırıcı özel olarak hazırlanmış masaya (100 x 60 cm genişlik 40 cm yüksekliğinde) alınan hayvanlar yatırıldılar. Ardından 6 mg/kg Xylazin hidroklorid ile uygulandıktan sonra, 3 dk boyunca hayvanlara maske ile 1.5 lt/dk'dan oksijen oda havası karışımı verildi. Ardından tavşan entübasyonunda eğitimli ve deneyimli bir hekim tarafından 3.5 mm'lik endotrekeal tüp ile entübe edildi. Anestezi, %2.0 İzofluoran ve 2 lt/dk oksijen-oda havası karışımı (% 80 Oksijen - %20 Oda havası) bir nemlendirici (Drägerwerk, Lubeck, Almanya) yoluyla idame ettirildi. Anestezinin istikrarını takiben hayvan, supin pozisyonda ve bacakları masaya bağlanarak sabitlendi. Hayvanların masaya alınıp entübe edilmesi arasında geçen süre ortalama 5 dk idi. Nabız hızı ve oksijen saturasyonu (SaO₂) deney boyunca, standart olarak sol arka ayak ayasına bağlı oksimetre sensörü yoluyla sürekli izlendi.

3.4.CERRAHİ TEKNİK

Uygulanan tüm cerrahi müdahaleler aynı cerrah tarafından yapıldı. Cerrahiye poliviodone iyodu (Batticon; Trommsdorff-Adeka İlaç Sanayi, Samsun, Türkiye) ile dezenfekte edildikten sonra karın bölgeleri traş edilerek başlandı. Sırtüstü yatan tavşanın ksifoid altında bisturi ile 1 cm'lik midline kesi uygulanarak laparoskopi işlemine başlandı. Uygulanan kesi yerinden veres iğnesiyle peritoneal boşluğa girildi. Veres iğnesinin periton boşluğunda olup olmadığı kontrol edildikten sonra periton içine CO₂ insuflasyonuna başlandı.

3.5.PENOMOPERİTONEUMUN GERÇEKLEŞTİRİLMESİ

İstenilen karın-içi basıncı sağlamak amacıyla otomatik bir insüflatör (model no. 3-315-00. Nortech. Elgin, IL, ABD) kullanıldı. Bu insüflatörün özelliği %100 CO2 havası depolayan tüplerden gazı 1 lt/dk hızında veriyordu. Abdominal kaviteye 1 litre/dk CO2 gaz akış hızını sabit tutarak peritonun yüksek alış veriş kapasitesi ve kullanılan gazların konsantrasyonunun korunmasını sağlayan bu makine, sistemik dolaşım aracılığıyla kılcal damardan gelebilecek muhtemel ilave oksijen girişini engelledi. Ayrıca bu insüflatör özelliği itibariyle batın içine önceden ayarlandığı basıncı sağlayana kadar CO2 gazı verecek, istenilen basınç sağlandığında gaz vermeyi kesecek, herhangi bir sebeple karın içi basınç azalması durumunda ise basıncı kararlaştırılan düzeyde tutmak için otomatikman devreye girip deneğin karın boşluklarına istenilen basınca kadar CO2 pompalayacak bir insüflatör idi.

3.6.LAPAROSKOPİK DOKU ÖRNEĞİ ALINMASI

Trokar girişi sağlayacak ancak portal kan akımını engellemediği literatürce önerilen üst sınırdaki (5 mmHg) basınç uygulanarak, istenilen basınca ulaşıldığında veres iğnesi çıkartıldı ve oblik olarak 5 mm'lik trokar girişi sağlandı. Trokar etrafına standart olarak 1 adet 3-0 poliglatktin (Vicryl, Ethicon Surgery) ile sütür konuldu. Trokar girişi sonrası 5 mm'lik 0° teleskop ile batın içine girildi. Optiğe ışık kaynağı (Karl Storz, Germany) bağlandı. Batın içi genel olarak veres girişi esnasında komplikasyon ve patolojik bir durum olmadığı karından sonra, sol ve sağ supraingunal noktalara 5 mm'lik trokar girişi yapıldı. Her iki 5 mm'lik trokar etrafına 3-0 vicryl ile sütür konuldu. Laparoskopi prosedürü disposable laparoskopi aletleriyle uygulandı (Ethicon Endosurgery, Brüksel, Belçika). İlk olarak parietal peritonun sağ alt çeyrek daireden atravmatik forseps ile tutularak kavrandı küçük bir kesit alındı ve bunu takiben makas ile kör disseksiyonla 1x2 cm'lik parietal periton örnekleri yapıldı. Peritoneal örneklendirmede yer yer hafif kanama oldu, ancak tüm bu kanamalar bir denekteki kanama hariç kendiliğinden durdu. Cerrahi uygulamada koter ya da elektrik akımı hiç kullanılmadı. İlk periton örneği alındıktan sonra deneğe uygulanacak basınç manevrası deneğin dahil olduğu gruba göre belirlenip uygulandı.



Resim 1:
Tavşanlara entübasyon uygulandıktan sonra inhaler anestesi verildi.



Resim 2:
Tavşanlara, ayak tabanından oksimetre sensörüyle ile saO₂ takibi yapıldı.
Deneklerden optik görüş altında peritoneal biyopsi alındı.



Resim 3:
Trokarların etrafına konulan sütürler CO₂ kaçağı önledi.
İAB sabit tutuldu.

3.7.PERİTON ÖRNEKLERİNİN ALINMA ZAMANLARI

P1 (Birinci peritoneal doku örneği):

Batın içine ulaşır ulaşmaz operasyonun başlangıcında sağ supraingunal alandan alındı.

P2 (İkinci peritoneal doku örneği):

Operasyonun 20.dk'sında sol supra ingunal alandan alındı.

P3 (Üçüncü peritoneal doku örneği):

Kontrol, Pp10 ve Pp15 gruplarında operasyonun 105 dk'sında, İPPp15 grubunda ise 125.dk'sında sol hipokondriak alandan alındı.

3.8.GRUPLAR

Tavşanlar 9'arlı 4 gruba ayrıldı. Bu gruplara uygulanacak cerrahi teknik zamanlamasına uymak için bir kronometre tutuldu. Her denek için bir zaman kayıt tabelası yapıldı. Kararlaştırılan zamanlamayı uymayan laparoskopik uygulama denekleri değerlendirme dışında tutuldu.

3.8.1.KONTROL GRUBU

Kontrol grubu deneklere ilk periton örneği alındıktan sonra 20 dk boyunca sadece anestezi uygulandı. Ardından batın içine görüntüyü oluşturan minimal basınç değeri olan 5 mmHg basınç sağlanana kadar CO2 insuflasyonu uygulandı. Görüş sağlandıktan sonra sol supraingunal alanından ikinci periton örneği alındı. İkinci periton dokusu alımı ortalama olarak 2 dk sürdü. Batın gazı boşaltılıp daha sonra 85 dk boyunca anestezi uygulandı. Ardından tekrar CO2 insuflasyonu uygulanıp 5 mmHg basınç sağlayıp üçüncü periton örneği sol hipokondriak alandan alındı (Şekil 2).

3.8.2.PP10 GRUBU

Pp10 grubu deneklere ilk periton örneği alındıktan sonra CO2 insuflasyona devam edildi. İntraabdominal basınç 10 mmHg' kadar yükseltildi. 20 dk boyunca bu basınç sürdürüldü. 20. dk da teleskop görüşü altında sol supraingunal alandan ikinci periton örneği alındı. Bu süreç ortalama olarak 2 dk sürdü. Ardından 70 dk boyunca Pp'a devam edildi. İşlem sonrasında 15 dk

Desuflasyon (D) uygulandı. 15 dk sonrasında 5 mmHg pnömoperitoneum uygulanarak görüş alanı sağlandıktan sonra sol hipokondriak alandan üçüncü periton örneği alındı (Şekil 3).

3.8.3. PP15 GRUBU

Pp15 grubu deneklere Pp10 grubundaki cerrahi prosedür 15 mmHg basıncıyla uygulandı (Şekil 4).

3.8.4.İPPP15 GRUBU

İPPP15 grubu deneklere ilk periton örneği alındıktan sonra **iskemik prekondisyon manevrası**, 10 dk boyunca 15 mmHg ile Pp ardından 10 dk boyunca D planlamasıyla uygulandı. Devamında 90 dk boyunca insuflasyon ardından 15 dk D uygulandı. D sonrası 5 mmHg Pp uygulanarak görüş alanı sağlandıktan sonra sol hipokondriak alandan üçüncü periton örneği alındı (Şekil 5).

3.9.DENEKLERİN SAKRİFİKASYONU

Denekler cerrahi prosedür uygulandıktan sonra 150 mg/kg pentobarbital sodyum i.v. enjeksiyonu (Dorminal %20; Alfasan) ile sakrifiye edilerek postmortem değerlendirme yapıldı. Postmortem değerlendirmede denekler batin içerisinde laparoskopik müdahalede cerrahın atlayıp gözünden kaçan komplikasyonlar (mide, ince barsak, kolon perforasyonu gibi) yönüyle kontrol edildi.

3.10.PERİTON DOKUSUNUN İNCELEMeye HAZIRLANMASI VE SAKLANMASI

Alınan periton dokulardan her birine standart olarak aynı işleme tabi tutuldu. Doku atravmatik bir penset ile forseps ucundan alındı. Penset ile steril bir spancın üzerinde bistüri ile tek bir hamle ile ikiye ayrıldı. Ayrılan dokuların her biri ayrı bir kaptaki buzlu ringer laktat solüsyonuna yıkandı. Patolojik değerlendirmeye alınacak doku %10 konsantrasyonundaki formaldehid sıvısı içinde bir gün bekletildi. Formaldehid içinde beklediği kapaklı plastik kapların üzerine denek numarası ve periton alınma sırası numarasını bildiren kodlamalar yazıldı. Kod numarası taşıyan kaplardaki dokular patolojik değerlendirmek için

laboratuara gönderildi. Kaplardaki dokular hangi gruba ait denek olduğu bilinmeden değerlendirmeye alındı. Bütün patolojik sonuçlar örnek kod numaralarına göre rapor edildiler. Biyokimya değerlendirmesine alınacak doku peritoneal dokuların buzlu soğuk ringer laktat solüsyonuyla yıkandı ependorf tüplerine alınarak patolojik örnekler gibi numaralandırıldı ve analiz edilene kadar -20° C'de saklandı. Biyokimya analizi toplu olarak yapılacağı için derin dondurucuda saklanan örnekler tüm deney sonuçlandığında toplu olarak laboratuara değerlendirilmeye gönderildi. Ancak laboratuvar ekibine deneklerin gruplara hakkında bilgi verilmedi. Bütün biyokimyasal sonuçlar örnek kod numaralarına göre rapor edildiler.

3.11.DOKULARIN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ

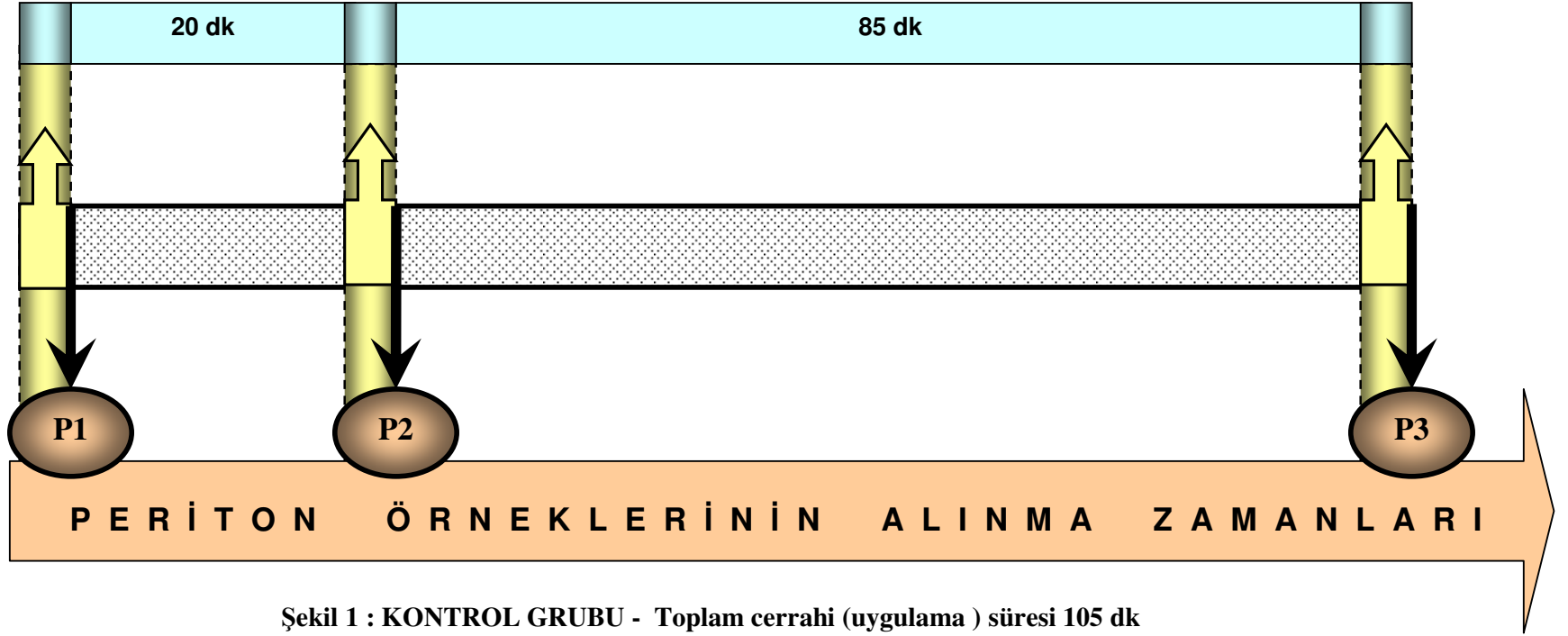
Deney hayvanlarının peritondan örneklenmiş doku örnekleri tamponlu formol solüsyonu ile 24 saat tespit edildikten sonra rutin doku takibi prosesi uygulandı. Parafine gömülen dokulardan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Dokularda mikroskopik olarak **iltihabi hücre infiltrasyonu, ödem ve mezotel proliferasyonu** açısından değerlendirildi.

3.12.İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA

Poly-L-lisinli lamlara alınan kesitlerde, hücrelerdeki INOS ekspresyonunu değerlendirmek için immünohistokimyasal boyama aşağıdaki şekilde uygulandı. Kesitler;

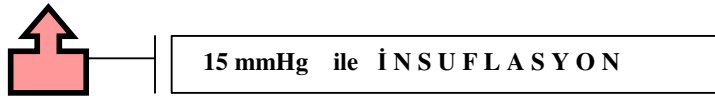
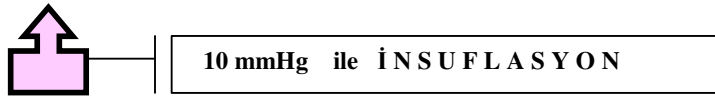
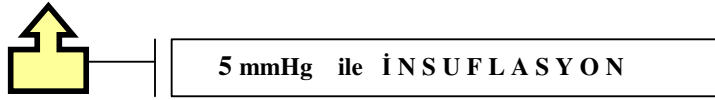
1. Deparafinizasyon ve dehidratasyon aşamasından geçirildi.
2. “Citrat buffer” (pH 6.0) içerisinde mikrodalga fırında 90 watt güçte 2 kez 10’ar dakika kaynatıldı.
3. Tris buffer ile yıkandı.
4. Endojen peroksit aktivitesini gidermek için %1’lik H₂O₂ ile 5 dakika inkübe edildi
5. Tris buffer ile yıkandı.
6. INOS ekspresyonunu değerlendirmek için INOS antikoru (1:100 dilüsyon, Neomarkers, USA) ile 30 dakika inkübe edildi. Ardından Tris buffer ile yıkandı.

KONTROL GRUBU

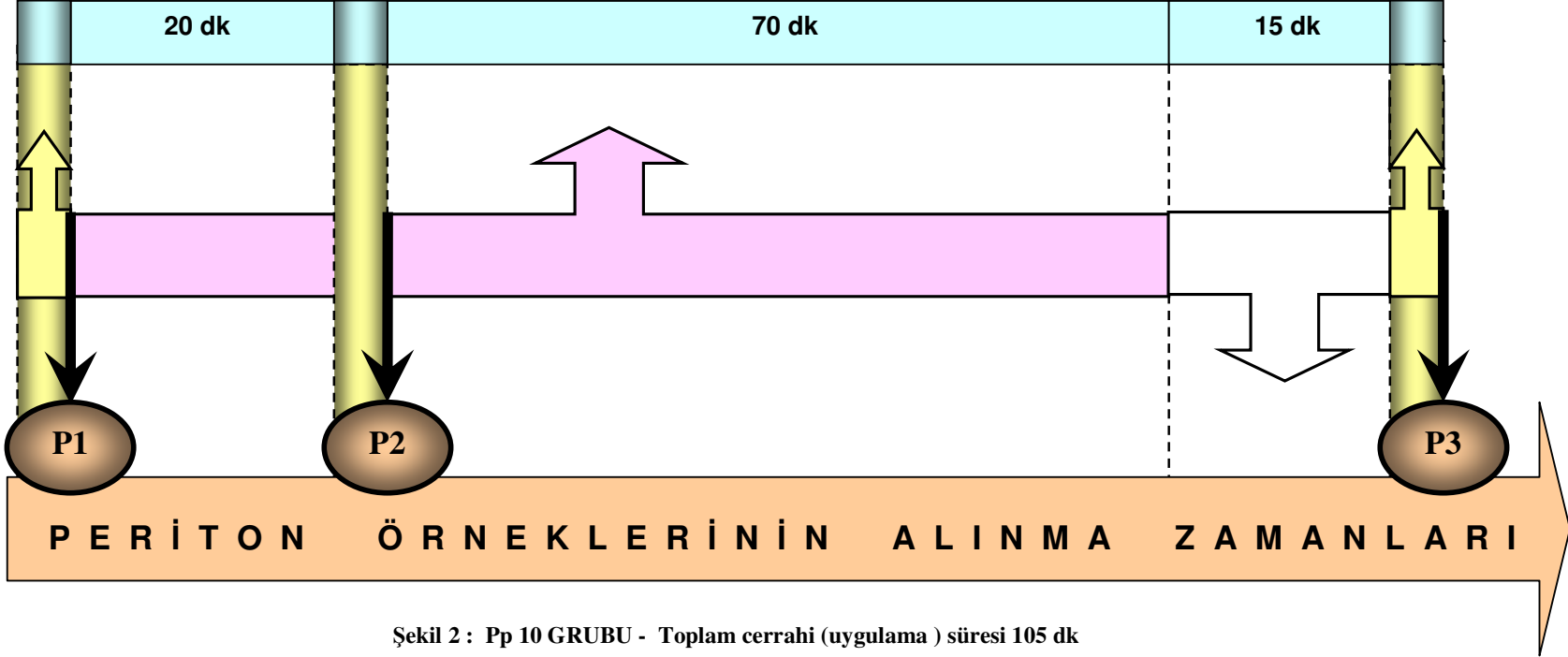


Şekil 1 : KONTROL GRUBU - Toplam cerrahi (uygulama) süresi 105 dk

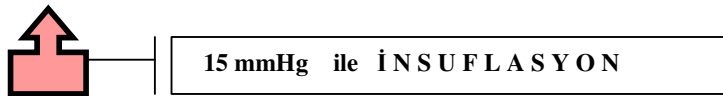
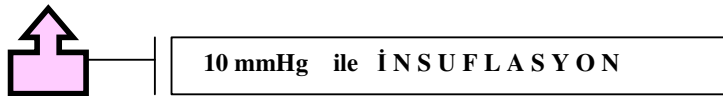
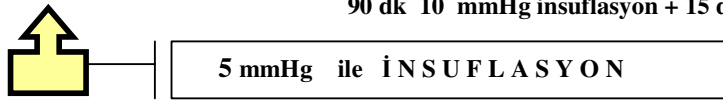
İnsuflasyon uygulanmadan 5 mmHg basınç uygulayarak görüş açısı sağlanıp 3 kez periton örneği alınan sadece anestezi uygulanan denekler.



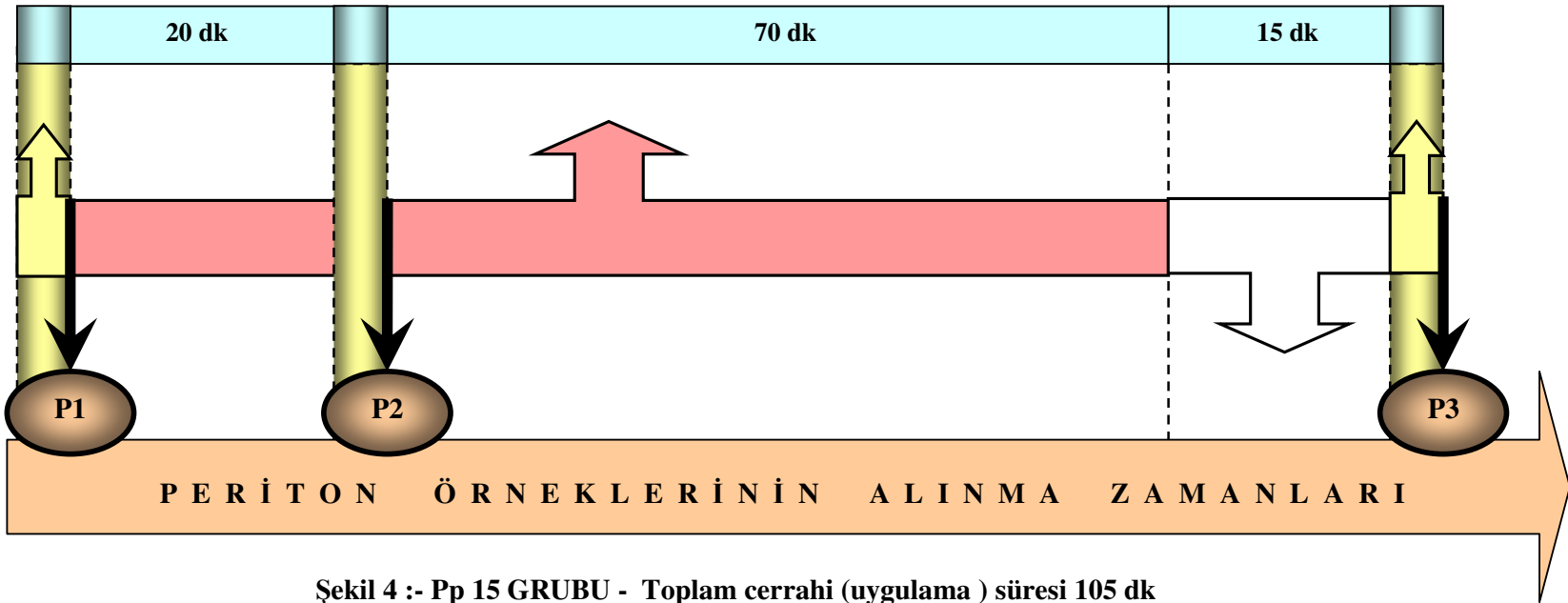
Pp 10 GRUBU



Şekil 2 : Pp 10 GRUBU - Toplam cerrahi (uygulama) süresi 105 dk
90 dk 10 mmHg insuflasyon + 15 dk desuflasyon uygulanan denekler

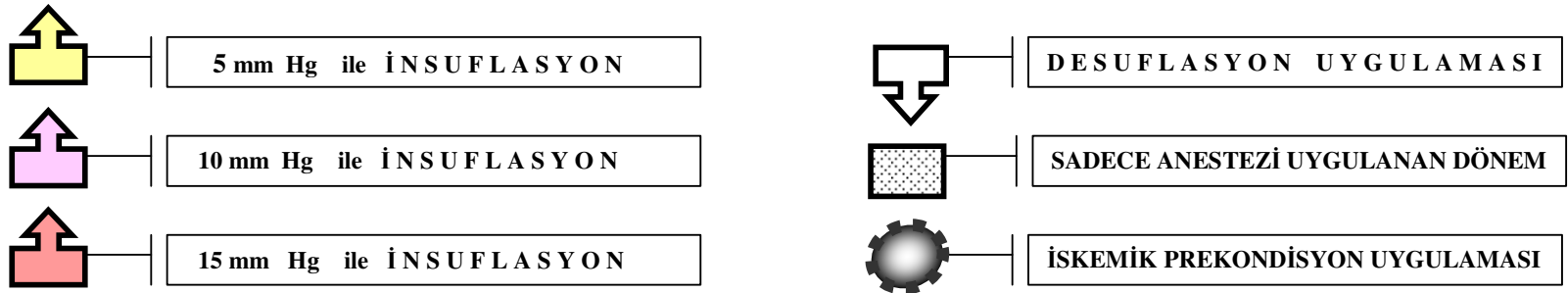


Pp 15 GRUBU

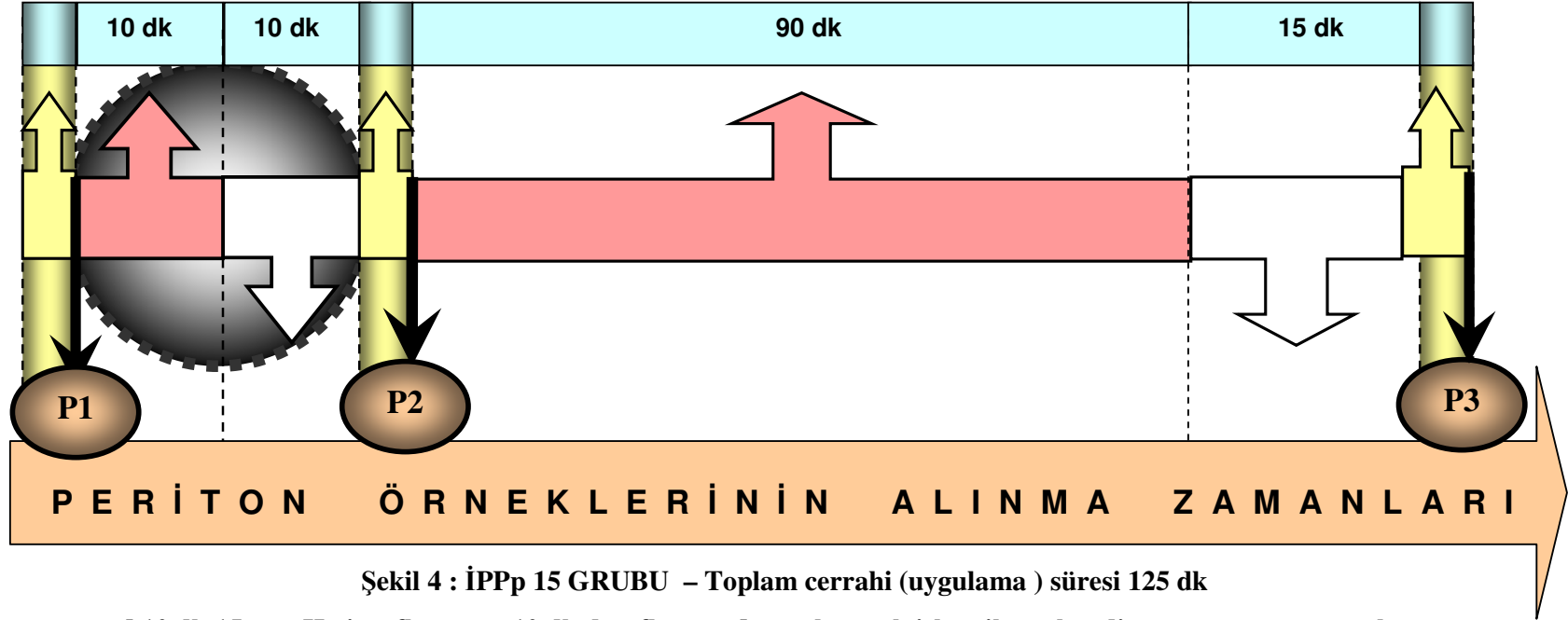


Şekil 4 :- Pp 15 GRUBU - Toplam cerrahi (uygulama) süresi 105 dk

90 dk 15 mm HG insuflasyon + 15 dk desuflasyon uygulanan denekler

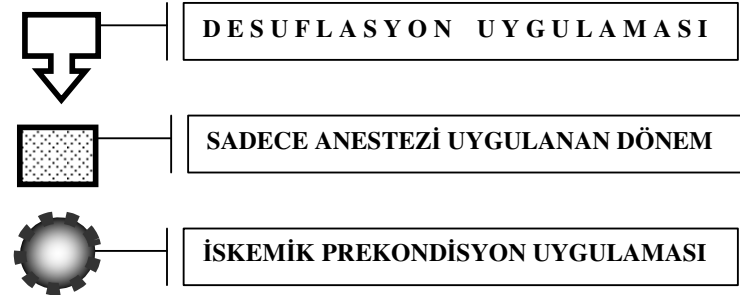
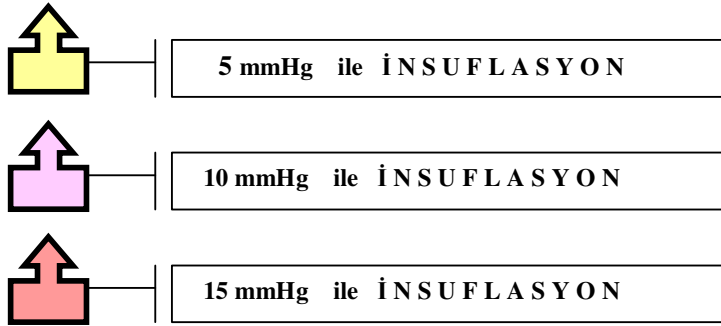


İP Pp 15 GRUBU



Şekil 4 : İPPp 15 GRUBU – Toplam cerrahi (uygulama) süresi 125 dk

[10 dk 15 mm Hg insuflasyon + 10 dk desuflasyon] uygulanarak iskemik preconditioning manevrası uygulanan ardından 90 dk süre ile 15 mmHg insuflasyon + 15 dk desuflasyon uygulanan denekler



7. Biotinlenmiş horseradish peroksidaz (Labvision, USA) solüsyonunda 10 dakika inkübe edildi.
 8. Tris buffer ile yıkandı.
 9. Kromojen olarak 3-amino-9-ethylcarbazole solüsyonunda boyanma yoğunluğu kontrol edilerek 5-15 dakika bekletildi.
 10. Distile sudan geçirildi.
 11. Zıt boyama olarak Mayers hematoksilen (10 dakika) kullanıldı.
 12. Distile suda yıkandı.
 13. Kurutularak montajlandı.
- Boyanan preparatlar ışık mikroskobu altında incelendi.

3.13.DOKULARIN BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRİLMESİ

Biyokimyasal analiz sırasında, peritoneal doku örnekleri ilk başlangıçta 0.1 M buz gibi pH 7.4 fosfat tamponda homojenize (Ultra Turrax Homogenizer, T18 Basic, IKA, Wilmington, NC) edildiler. Homojenize işleminden sonra doku örnekleri 3000 g ve 4°C’de 10 dakika boyunca santrifüj edildiler. Yüzenler ayrıldı ve oksidatif stres marker ile inflamatuvar sitokinlerin kararlaştırılması için kullanıldılar. Doku protein konsantrasyonu, Biuret metodu kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar malondialdehide (MDA) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx) için $\mu\text{mol/g}$ protein olarak ve glutasyon redüktas (GR) için U/g protein olarak ve tümör nekrosis faktör-alfa (NTF- α) ve interlökin-6 (IL-6) için de ng/g protein olarak alındı.

Peritoneal doku MDA seviyeleri, (119) tiobarbiturik asit metodu ile ölçüldü. Bu metoda göre MDA seviyeleri, tiobarbiturik asit (TBA) yıkama reaktif katkısı kullanarak ölçüldüler. Her bir reaksiyon tüpünde 100 μl homojenize doku, 750 μl TBA: perklorik asit karışımı (2:1 hacim olarak) ve 10 μl BHT (20 g/L) vortekslendi ve 60 dakika boyunca 95 °C su da banyo edildi. Reaksiyon buz üstünde durduruldu ve TBA-MDA kompleksini çıkartmak için 2 ml HPLC-derece-butanol eklenerek şiddetli vortekslendi ve sonra da santrifüjlandı. TBA-MDA floresan spektrofotometre (Hitachi, Tokyo, Japonya) ile 532 nm ve 533 nm emisyonunda kararlaştırıldı.

MDA, lipid peroksil radikallerinin çözümlenmesinden oluştuğu için oksidatif stresin bir göstergesidir. MDA aynı zamanda protein moleküllerini okside ederek daha ileri oksidatif hasara yol açabildiği için de önemlidir (120). Bütün bu avantajlara rağmen, MDA, ROS ve özellikle de prostaglandinler gibi, bir çok farklı biyokimyasal sistemlerden seviyesinin etkilenmesi dezavantajdır. Ayrıca ROS'lar geniş bir yelpazede hücre sel yapı ile etkileşebilirler. O yüzden gruplar arasındaki farklılığı ortaya koymak için antioksidanlarda değerlendirmeye eklendi (GR ve GPx).

Doku GR aktiviteleri Randox laboratuvarlarından (Randox Laboratories Ltd, Country Antrim, UK) sağlanan bir Hitachi 917 oto-analizörde ticari bir kit kullanılarak ölçüldü.

Doku sitokinleri (NTF- α ve IL-6) sistematik bağışıklık sisteminin aktive edilmesinin bir belirteci olarak, ticari olarak mevcut olan bir tavşan ELISA kiti (Biosource Europe SA, Nebeller, Belçika) ile ölçüldü.

3.14. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak hesaplandı. Ortalama Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U-testleri kullanılarak karşılaştırıldı. İstatistiksel analizler, SPSS (Windows için 11.1 versiyonu) kullanılarak yapıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

4.1. ÇALIŞMADAN ÇIKARTILAN DENEKLER

Toplam 36 tavşanla başlanan çalışmada, 6 tavşan değerlendirilmeden çıkartıldı

Kontrol grubu: Bu gruptan bir denek postmortem değerlendirmede mide perforasyonunun geliştiğinin tespit edilmesi üzerine değerlendirilmeden çıkartıldı.

Grup Pp10: Bir denek ilk periton örneği alınmasından sonra sağ supraingunal alandaki periton örnekleme alanında durmayan belirgin kanama olması

üzerine değerlendirilmeden çıkartıldı. İkinci deneğin trokar girişi sonrasındaki batın ekspolarasyonunda barsak içeriğinin görülmesi üzerine işleme son verildi cerrahi prosedür uygulanmadı ve denek değerlendirmeden çıkartıldı.

Grup Pp15: Bir denek cilt amfizemi gelişmesi nedeniyle değerlendirmeden çıkartıldı. İkinci denek operasyonun 5. dk da SaO2 30 – 40 civarına düşmesi üzerine operasyona son verildi. Operasyonun 10.dk'sında ex olan tavşanın disseksiyon yapıp değerlendirilmesinde entübasyon esnasında oluşan trakea rüptürü geliştiği ortaya çıktı.

Grup İPPp15: Bir denek 20. dk'da alınması gereken ikinci periton örneği istenilen zamanda alınamadığı için değerlendirilmeden çıkartıldı

Bunların sonucunda deney Kontrol, İPPp15 gruplarında 8 tavşan, Pp10 grubu ve Pp10 grubunda ise 7 tavşan değerlendirilmeye alındı. Bu tavşanların alınan dokularının patolojik ve biyokimyasal değerleri istatistiksel değerlendirmeye alındı.

İlk görüş batın ekspolarasyonunda 30 tavşanın hiçbirinde patolojik bulgu gözlenmemiştir. Ayrıca bu tavşanların postmortem değerlendirilmesinde laparoskopik komplikasyona rastlanmadı. Bu tavşanların operasyon süresince SaO2 değerleri (%96-99) ve kalp atım ritimleri (94-98) normal sınırlarda seyretti.

4.2.BİYOKİMYASAL PARAMETRE SONUÇLARI

4.2.1.DOKU MDA DEĞERLERİ

Deneyin başnağıcında alınan doku örneklerindeki MDA değerleri birbirine benzerdi. Bulunan değerlerin aralarında istatistiksel olarak anlamlılık yoktu (Tablo 3).

Tablo-3: Periton MDA'sının laparoskopik uygulama süresindeki değişimi

MDA (umol/g pr)	P1	P2	P3
Kontrol	0,1484±0,090	0,1618±0,077	0,1645±0,065
Pp10	0,1726±0,083	0,2911±0,044 ^a	0,5423±0,067 ^c
Pp15	0,1557±0,023	0,3532±0,052 ^b	0,7854±0,041 ^d
İPPp15	0,1336±0,043	0,1415±0,065	0,2283±0,023

MDA: Malonyl-dialdehid

Pp10 : Laparoskopik Pp sırasında 10 mmHg basınç uygulanan grup

Pp15 : Laparoskopik Pp sırasında 15 mmHg basınç uygulanan grup

İPPp15 : İskemik prekondisyon manevrası sırasında ve sonrasında 15 mmHg basınçta Pp uygulanan grup

P1 : Deneyin başlangıcında alınan periton biyopsisi

P2 : Deneyin 20. dk'sında alınan periton biyopsisi

P3 : Deneyin bitişinde alınan periton biyopsisi

^a : P< 0.05; Deneyin 20. dk'sında alınan biyopsilerde Pp10 grubunun MDA değeri, kontrol ve İPPp15 gruplarından daha yüksekti.

^b : P< 0.05; Deneyin 20. dk'sında alınan biyopsilerde Pp15 grubunun MDA değeri, kontrol ve İPPp15 gruplarından daha yüksekti.

^c : P< 0.05 ; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp10 grubunun MDA değeri, kontrol ve İPPp15 gruplarından daha yüksekti.

^d : P< 0.05 ; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp15 grubunun MDA değeri, Pp10, İPPp15 ve kontrol gruplarından daha yüksekti.

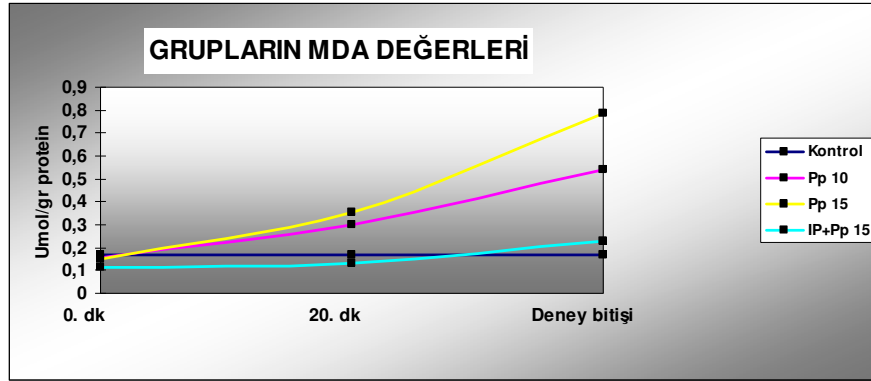
Deneyin 20.dk'sında alınan doku örneklerinde MDA (MDA-2) değeri Pp10 ve Pp15 gruplarında, İPPp15 ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (P<0.05) (Tablo-3)

Pp15 grubu MDA-2 değeri Pp10 grubundan yüksek olmakla birlikte aralarındaki farkın istatistiksel anlamlı değere ulaşmadığı görüldü. İPPp15 grubunda MDA-2 değeri Pp15 ve Pp10 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (P<0.05). İPPp15 grubunda MDA-2 değeri

kontrol grubuna göre daha düşüktür aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Deneyin bitişinde alınan doku örneklerinde MDA değerleri en yüksekten, en düşüğe doğru Pp15, Pp10, İPPp15, Kontrol gruplarında bulunmuştur (Tablo-3). Bu değerlendirmeye göre Pp15 grubunda deney bitışı MDA değerleri Pp10 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksekti ($P<0.05$). İPPp15 grubu deney bitışı MDA değerleri Pp15 ve Pp10 gruplarının deney bitışı MDA değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$). İPPp15 grubu deney bitışı peritoneal MDA değeri kontrol grubuna göre daha yüksek değerlerdedir ancak bu değer farkı istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Şekil 6: Operasyon süresince gruplardaki periton MDA değişimi



4.2.2.DOKU İL6 DEĞERLERİ

Deneyin başında alınan doku örneklerindeki İL6 değerleri birbirine benzerdi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlılık yoktu (Tablo-4).

Tablo-4: Peritoneal İL-6'nın laparoskopik uygulama süresindeki değişimi

İL6 ng / gr pr	P1	P2	P3
Kontrol	0,406±0,71	0,394±0,69	0,493±0,08
Pp10	0,491±0,63	0,933±0,61 ^a	1,597±0,17 ^c
Pp15	0,508±0,45	1,157±0,45 ^b	3,183±0,30 ^d
İP+Pp 15	0,502±0,26	0,582±0,33	0,397±0,35

İL-6: İnterlökin 6

Pp10 : Laparoskopik Pp sırasında 10 mmHg basınç uygulanan grup

Pp15 : Laparoskopik Pp sırasında 15 mmHg basınç uygulanan grup

İPPp15 : İskemik prekondisyon manevrası sırasında ve sonrasında 15 mmHg basınçta Pp uygulanan grup

P1 : Deneyin başlangıcında alınan periton biyopsisi

P2 : Deneyin 20. dk'sında alınan periton biyopsisi

P3 : Deneyin bitişinde alınan periton biyopsisi

^a : $P < 0.05$; Deneyin 20. dk'sında alınan biyopsilerde Pp10 grubunun İL-6 değeri, kontrol ve İPPp15 gruplarından daha yüksekti.

^b : $P < 0.05$; Deneyin 20. dk'sında alınan biyopsilerde Pp15 grubunun İL-6 değeri, kontrol ve İPPp15 gruplarından daha yüksekti.

^c : $P < 0.05$; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp10 grubunun İL-6 değeri, kontrol ve İPPp15 gruplarından daha yüksekti.

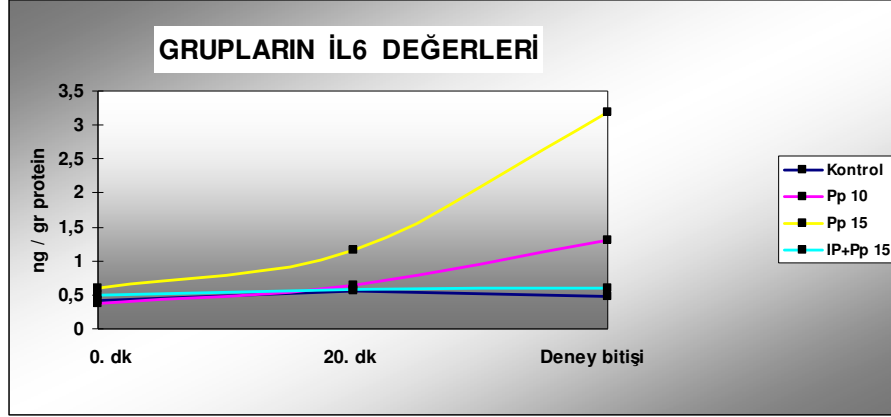
^d : $P < 0.05$; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp15 grubunun İL-6 değeri, Pp 10, İPPp15 ve kontrol gruplarından daha yüksekti.

Deneyin 20. dk'sında alınan doku örneklerinde İL-6 değerleri Pp10 ve Pp15 gruplarında, İPPp15 ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($P < 0.05$). Pp15 grubunda deneyin 20. dk'sında alınan doku İL-6 değerleri Pp10 grubuna göre yüksek olmakla birlikte aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. İPPp15 grubunda deneyin 20. dk'sında bulunan İL6 değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ancak aralarındaki fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Ayrıca deneyin 20.dk'sında İPPp15 grubunda bulunan İL6 değerleri, Pp15 ve Pp10 grupları İL-6 değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($P < 0.05$).

Deneyin bitişinde alınan doku örneklerinde bulunan İL6 değerleri en yüksekten, en düşüğe doğru Pp15, Pp10, İPPp15, Kontrol gruplarında bulunmuştur (Tablo-4). Deneyin bitişinde bulunan İL-6 değeri Pp15 grubunda Pp10 grubuna göre istatistiksel anlamlı derecede daha yüksektir ($P < 0.05$). İPp15

grubu deney bitimi doku İL6 değeri Pp15, Pp10 gruplarındaki İL6 değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür (P<0.05). Deney bitimindeki Pp15 ve Pp10 grubu İL6 değerleri, kontrol grubu İL6 değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir (P<0.05).

Şekil 7: Operasyon süresince gruplardaki periton İL6 değişimi



4.2.3.DOKU TNF- α DEĞERLERİ

Deneyin başlangıcında alınan doku örneklerindeki TNF- α değerleri birbirine benzerdi ve değerlerin arasında istatistiksel olarak anlamlılık yoktu (Tablo-5).

Tablo-5: Periton TNF- α 'nın laparoskopik uygulama süresindeki değişimi

TNF- α	P1	P2	P3
Kontrol	4,252 \pm 0,22	4,105 \pm 0,55	4,622 \pm 0,22
Pp10	4,542 \pm 0,77	6,101 \pm 0,62 ^a	8,92 \pm 0,15 ^c
Pp15	4,673 \pm 0,84	5,032 \pm 0,56 ^b	12,51 \pm 0,27 ^d
İP+Pp 15	4,383 \pm 0,24	4,389 \pm 0,26	4,242 \pm 0,36

TNF- α : Tümör Nekroz Faktör alfa

Pp10 : Laparoskopik Pp sırasında 10 mmHg basınç uygulanan grup

Pp15 : Laparoskopik Pp sırasında 15 mmHg basınç uygulanan grup

İPPp15 : İskemik prekondisyon manevrası sırasında ve sonrasında 15 mmHg basınçta Pp uygulanan grup

P1 : Deneyin başlangıcında alınan periton biyopsisi

P2 : Deneyin 20. dk'sında alınan periton biyopsisi

P3 : Deneyin bitişinde alınan periton biyopsisi

^a : $P < 0.05$; Deneyin 20. dk'sında alınan biyopsilerde Pp10 grubunun TNF- α değeri, kontrol ve İPPp15 gruplarından daha yüksektir.

^b : $P < 0.05$; Deneyin 20. dk'sında alınan biyopsilerde Pp15 grubunun TNF- α değeri, kontrol ve İPPp15 gruplarından daha yüksektir.

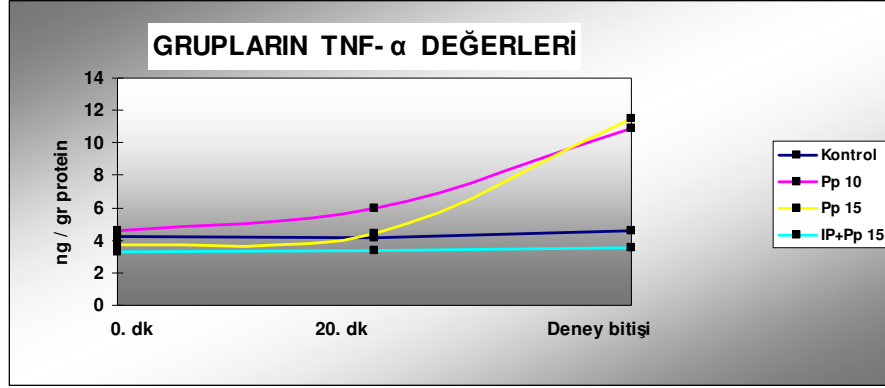
^c : $P < 0.05$; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp10 grubunun TNF- α değeri, kontrol gruplarından daha yüksektir.

^d : $P < 0.05$; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp15 grubunun TNF- α değeri, Pp 10, İPPp15 ve kontrol gruplarından daha yüksektir.

Deneyin 20. dk'sında alınan doku örneklerinde TNF- α değerleri Pp10 ve Pp15 gruplarında, kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Deneyin 20. dk'sında Pp10 grubunda TNF- α değerleri Pp15 grubuna göre yüksek olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmamıştır. İPPp15 grubundaki deneyin 20.dk'sında TNF- α değerleri kontrol grubuna göre daha düşüktü ancak aralarında istatistiksel anlam yoktu. Deneyin 20.dk'sındaki doku TNF- α değeri İPPp15 grubunda Pp15 ve Pp10 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($P < 0.05$).

Deneyin bitişinde alınan doku örneklerinde TNF- α değerleri en yüksekten, en düşüğe doğru Pp15, Pp10, İPPp15, Kontrol gruplarında bulundu (Tablo-III). Bu değerlendirmeye göre Pp15 grubunda deney bitimi TNF- α değerleri Pp10 grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti ($P < 0.05$). İPp15 grubu deney bitimi doku TNF- α değeri, Pp15 grubununa göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü ($P < 0.05$). Deney bitimi TNF- α değerleri İPp15 grubu, Pp10 grubunun TNF- α değerlerine göre daha düşüktür ancak aralarındaki fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. Pp15 ve Pp10 grubu deney bitimşi TNF- α değerleri, kontrol grubu TNF- α değerlerine göre istatistiki olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($P < 0.05$). Pp10 grubu deney bitimi TNF- α değerleri, Pp15 grubu TNF- α değerleri göre istatistiki olarak anlamlı derecede daha düşük bulundu ($P < 0.05$).

Şekil 8: Operasyon süresince gruptaki periton TNF- α değişimi



4.2.4.DOKU GR DEĞERLERİ

Deneyin başlangıcında alınan doku örneklerindeki GR değerleri birbirine benzerdi ve bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlılık yoktur

İkinci olarak alınan doku örneklerinde GR değerleri arasında istatistiki anlamda farklılık bulunmadı.

Tablo-6: Periton GR'nin laparoskopik uygulama süresindeki değişimi

GR	P1	P2	P3
Kontrol	4,720±0,32	4,920±0,37	5,120±0,34
Pp10	4,350±0,58	4,720±0,33	3,950±0,32 ^a
Pp15	3,890±0,66	4,680±0,42	2,350±0,68 ^b
IP+Pp 15	4,790±0,67	5,610±0,55	5,420±0,53

GR : Glutasyon redüktaz

Pp10 : Laparoskopik Pp sırasında 10 mmHg basınç uygulanan grup

Pp15 : Laparoskopik Pp sırasında 15 mmHg basınç uygulanan grup

İPPp15 : İskemik prekondisyon manevrası sırasında ve sonrasında 15 mmHg basınçta Pp uygulanan grup

P1 : Deneyin başlangıcında alınan periton biyopsisi

P2 : Deneyin 20. dk'sında alınan periton biyopsisi

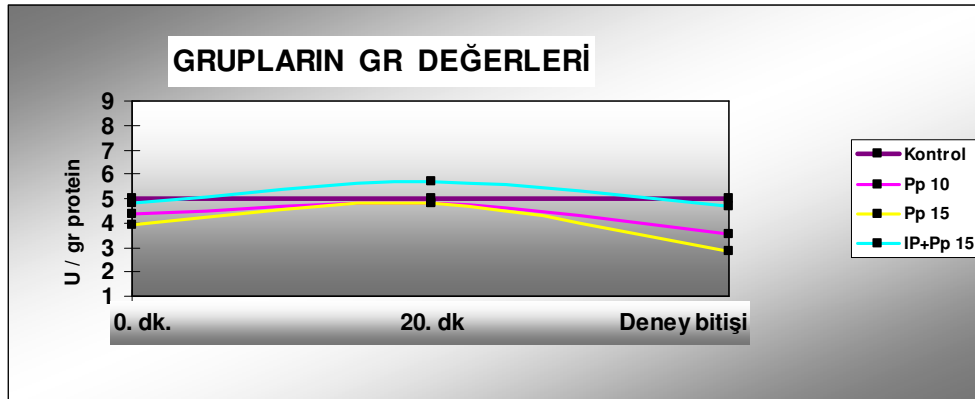
P3 : Deneyin bitişinde alınan periton biyopsisi

^a : $P < 0.05$; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp10 grubunun GR değeri, kontrol ve İPPp15 gruplarından daha düşüktür.

^b : $P < 0.05$; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp15 grubunun GR değeri, Pp10, İPPp15 ve kontrol gruplarından daha düşüktür.

Deneyin bitişindeki Pp15 ve Pp10 grubu peritoneal GR değerleri, kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($P < 0.05$). (Tablo 6) Pp15 grubu deney bitimindeki periton GR değerleri, Pp10 grubu ve İPPp15 grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($P < 0.05$). deney bitimindeki Pp10 grubu, İPPp15 grubu, kontrol grubu peritoneal doku GR değerleri arasında istatistiki fark bulunmamıştır. ($P > 0.05$).

Şekil 9: Operasyon süresince gruptaki GR değişimi



4.2.5.DOKU GPx DEĞERLERİ

Deney başlangıcında alınan doku örneklerindeki GPx değerleri birbirine benzerdi ve bulunan değerlerin arasında istatistiksel olarak anlamlılık yoktu.

Deneyin 20.dk'sında alınan doku örneklerinde Pp10 ve Pp15 gruplarındaki GPx değerleri kontrol grubuna göre benzerdi ve aralarında istatistiksel anlamlılık

yoktu (Tablo 7). Deneyin 20.dk'sı İPp15 grubu GPx değerleri, Pp15, Pp10 ve kontrol grupları GPx değerlerine göre istatistiki olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($P<0.05$). Deneyin 20. dk'sında Pp15, Pp10, Kontrol grupları arasında GPx değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 7).

Tablo-7: Periton GPX'in laparoskopik uygulama süresindeki değişimi

GPX	P1	P2	P3
Kontrol	253,250±6,90	257,520±6,75	243,340±6,35
Pp10	230,420±0,94	242,870±26,44	187,720±17,23 ^b
Pp15	245,360±0,47	254,560±16,42	97,270±13,26 ^c
IP+Pp 15	231,250±0,53	288,970±32,37 ^a	211,130±18,08

GPX : Glutasyon peroksidaz

Pp10 : Laparoskopik Pp sırasında 10 mmHg basınç uygulanan grup

Pp15 : Laparoskopik Pp sırasında 15 mmHg basınç uygulanan grup

İPp15 : İskemik prekondisyon manevrası sırasında ve sonrasında 15 mmHg basınçta Pp uygulanan grup

P1 : Deneyin başlangıcında alınan periton biyopsisi

P2 : Deneyin 20. dk'sında alınan periton biyopsisi

P3 : Deneyin bitişinde alınan periton biyopsisi

^a : $P<0.05$; Deneyin 20. dk'sında alınan biyopsilerde ölçülen GPX değeri İPp15 grubunda Pp10, Pp15 ve kontrol gruplardan daha yüksektir.

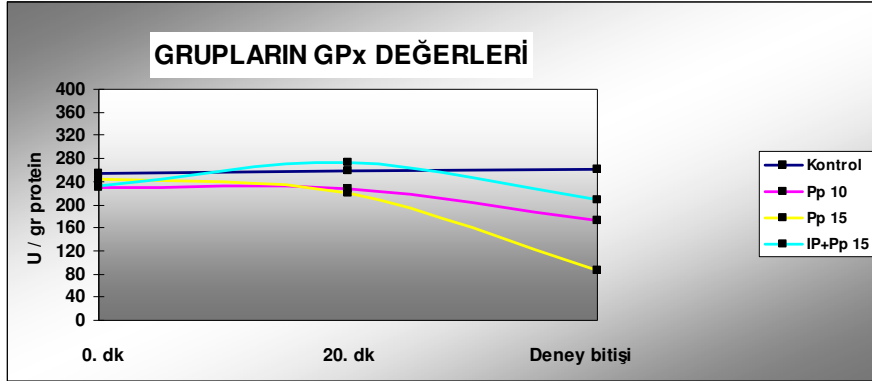
^b : $P<0.05$; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp10 grubunun GPX değeri, Kontrol grubu GPX değerlerine göre daha düşüktür.

^c : $P<0.05$; Deneyin bitişinde alınan biyopsilerde Pp15 grubunun GPX değeri, Pp10, İPp15 ve kontrol grubu GPX değerlerinden daha düşüktür.

Deneyin bitiminde alınan doku örneklerinde GPx değerleri en yüksekten, en düşüğe doğru kontrol, İPp15, Pp10, Pp15 gruplarında bulundu (Tablo 7). Deney bitişindeki Pp15 ve Pp10 gruplarının GPx değerleri, kontrol grubu GPx değerlerine göre istatistiki olarak anlamlı derecede daha düşüktü ($P<0.05$). Pp15 grubunda bulunan deney bitışı GPx değeri Pp10 grubuna göre istatistiki olarak

anamlı derecede daha düşüktü ($P<0.05$). Deney bitiminde alınan peritoneal dokuda GPx değerleri, İPp15, Pp10, kontrol gruplarında benzerdi ve aralarında istatistiki olarak anlamlılık bulunmadı.

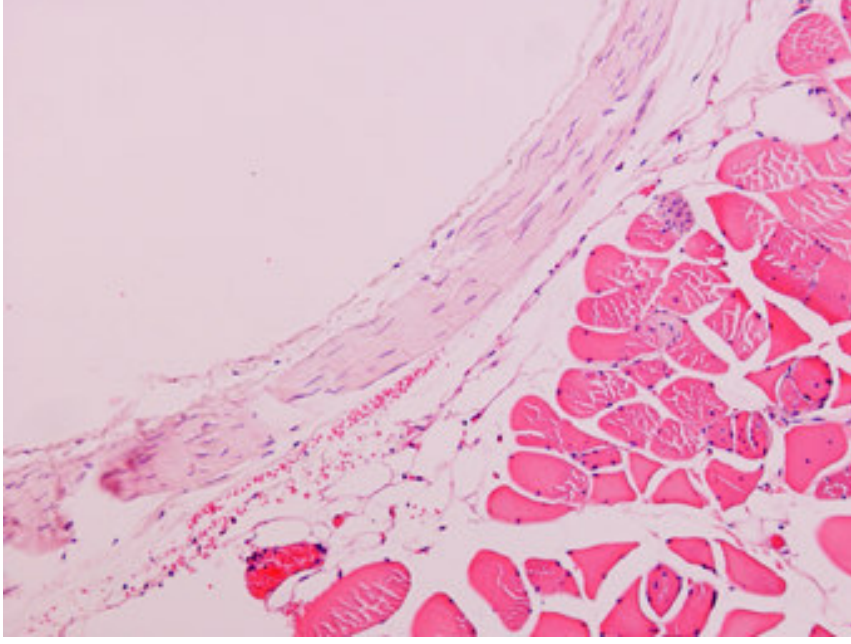
Şekil 10: Operasyon süresince gruptaki periton GPX değişimi



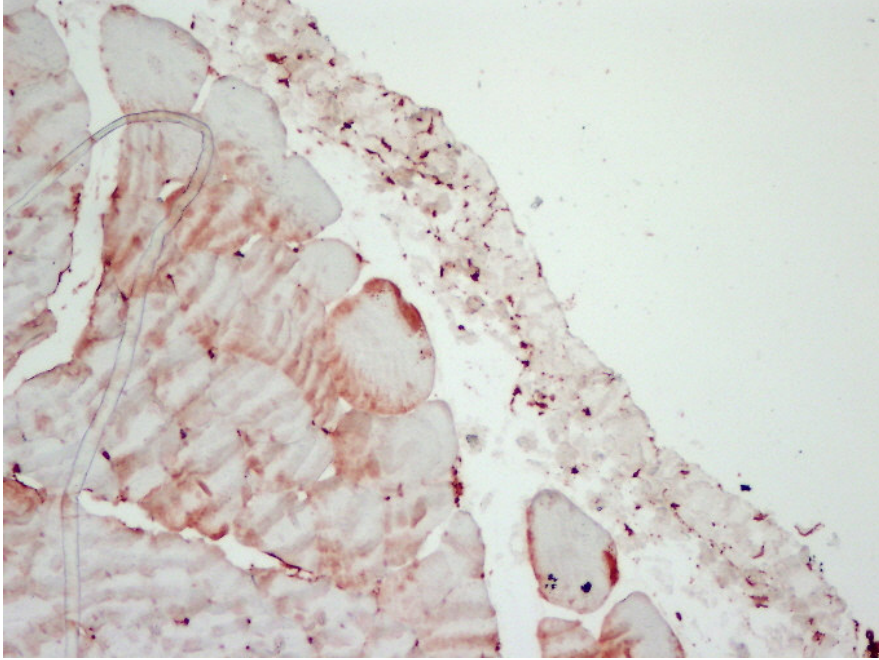
4.3.HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Işık mikroskobu ile yapılan incelemede gruptaki deneklere ait periton örneklerinin hiç birinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödem, mezotel proliferasyonu veya başka bir patolojik bulguya rastlanmadı (Resim 4). Tüm doku örnekleri birbirine benzer şekilde normal histolojik bulgular olarak değerlendirildi.

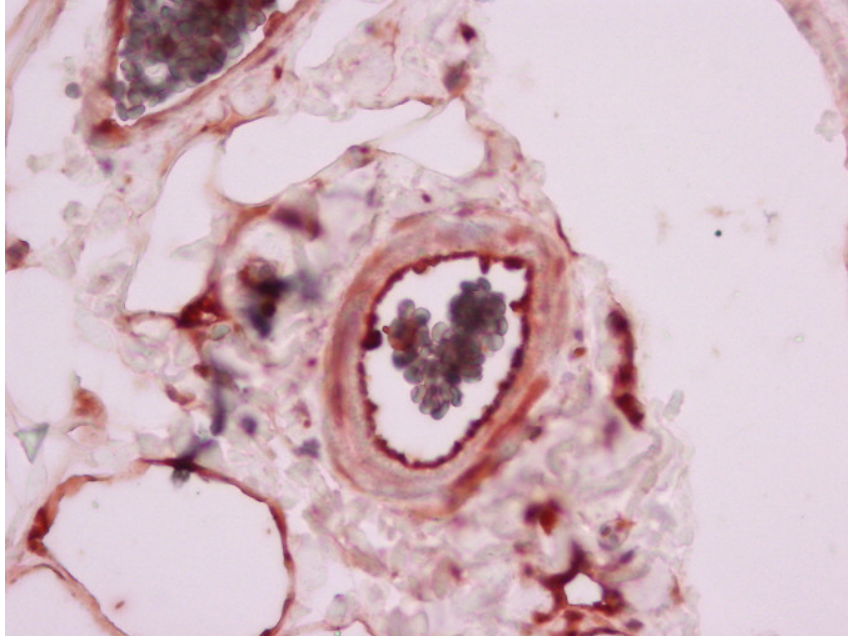
İmmunohistokimyasal olarak yapılan incelemede INOS antikoru ile damar endotel hücreleri dışında herhangi bir boyanma saptanmamıştır (Resim 5,6) Ancak boyanma özellikleri açısından gruplar arasında herhangi bir farklılık bulunmadı.



Resim 4. Düzenli yapıda periton ve kas dokusu (Hematoksilen&Eosin, x20)



Resim 5. Periton ve kas dokusunda negatif boyanma. (İNOS, x20)



Resim 6. Damar endotelinde pozitif boyanma (İNOS, x40)

V. TARTIŞMA

Laparoskopik cerrahi prosedürlerin son iki dekatta, hızla alışıl gelmiş cerrahi tekniklerin yerini alması araştırmacıların laparoskopik cerrahiye olan ilgisini artırmıştır. Yapılan laparoskopik klinik çalışmaların etik sınırların etkisiyle kısıtlı olması yanında, deneysel çalışmalarda elde edilen sonuçların çok azı kliniğe uyarlanabilmiştir (18).

Son zamanlarda hayvan modellerinde yapılan laparoskopik çalışmalar, pnemoperitoneum değişkenlerinin (insuflasyon tekniğine ve insuflasyon gazına bağlı) organlara ve sistemlere (kardiyovasküler sistem, retikülo-endotelyal sistem, immun sistem) olan etkilerinin ve adezyon oluşum mekanizmasının çözümlenmesi üzerine yoğunlaşmaktadır (18).

Araştırmacıların çoğu, yayınlarında laparoskopik uygulamanın negatif etkilerinin pnemoperitoneumdan kaynaklandığını vurgulamışlardır (2, 3, 23, 30,

37, 42-45, 51). Litaratürde laparoskopide kullanılan Pp un oluşturduğu oksidatif stres etkisini inceleyen çalışmalar mevcuttur (2, 30, 37, 42-46,119).

Antioksidanlar ve oksidanlar arasında oksidan lehine ağır basan dengesizliğe, oksidatif stres denir (32). Bu durumun şiddeti artarsa organ fonksiyonlarının azalması ve organ yetmezliğine neden olabilir (32). Oksidatif stresin, adezyon oluşumu da dahil pek çok patolojiyle ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (3).

Pp sağlandığında artan IAP, kılcak damar ağlarına mekanik baskı uygulayarak splanknik mikro-dolaşımını azaltır ve böylelikle karın organlarına giden oksijen ulaşımını azalır (18). Sonuçta Pp hücre düzeyinde hipoksik bir ortam oluşturur (18). Bir çalışmada Pp sırasında, süperior mezenterik arter ve portal venin kanlanmasının %24'lük azaldığı rapor edilmiştir (121).

Yapılan klinik bir çalışmada sağlıklı hastalarda, yüksek IAP ile Pp uygulandığında kan akışının periton duvarında %60, midede %54, jejunumda %32, ve duodenumda %11, kolonda %4 azaldığı gösterilmiştir (121).

Laparoskopik çalışmalarda, farklı modeller ve karın içi basınçlar kullanarak karın içi mikro dolaşımdaki değişim incelenmiştir (3). Yapılan bir çalışmada 15-20 mmHg'lik karın-içi basıncın, kardiyak çıkışındaki değişimlerden bağımsız olarak, splanik iskemi yarattığı ortaya konulmuştur (123). Rutin laparoskopik ameliyatlarda kullanılan 10-15 mmHg Pp un, normal portal basıncı (7-10 mmHg) seviyelerinden daha yüksek karın-içi basınca yol açar (2, 18, 92, 94, 95, 124).

Klinik çalışmalar rutin laparoskopik ameliyatlarda kullanılan Pp un barsak perfüzyonunda ve karaciğer mikrodolaşımında belirgin bir düşüşe neden olduğunu göstermiştir (93, 125).

Yapılan klinik bir laparoskopik çalışma, uygulanan 15 mmHg lik Pp un parietal periton ve periton içi organlardaki kan akışını düşürdüğünü göstermiştir (130). Aynı çalışma da 10 mmHg basınçlardaki Pp'da periton içi organlarda ve parietal peritoneal kan akışında hiç değişim olmadığını görmüştür (126).

Laparoskopik çalışmalarda kullanılan rat ve tavşan modelleri hayvan boyutları küçük olduğundan, insanlardan farklı olarak daha düşük karın içi basınçların portal basıncı aşması muhtemeldir (3). Laparoskopik model olarak domuzların kullanıldığı bir çalışmada, Pp ile sağlanan 10 mmHg karın içi basıncının, rektüs kılıfı kan akışında (127) %42 lik bir azalmaya neden olduğu, ancak barsak mukoza kan akışında bariz değişikliğe yol açmadığı bulunmuştur (128).

Rat modeli kullanılan başka bir laparoskopik çalışmada ise, 10 mm Hg.lik bir basınçla Pp uygulanmasının, jejunal mukoza perfüzyonunda %29 oranında, Pp 15 mm Hg.lik bir basınçla uygulandığında ise jejunal mukoza perfüzyonunda % 78 oranında kan akışı azalması yarattığı, Pp basıncı artmasına bağlı oluşan kademeli perfüzyon azalmasının mukoza mikro sirkülasyonunda şiddetli bozukluğa yol açtığı gözlemlenmiştir (117).

Araştırmacılar çalışmalarında laparoskopik cerrahi sürecinde ROS oluşumunun karın-içi basınç yüksekliğiyle, insüfle edilen gazın soğuk, kuru veya yüksek konsantrasyonda olmasıyla, insüflasyon hızı ile ilgili batın içi organ yüzeylerinin soğuması ve kurumasıyla, insüfle edilen gazın neden olduğu pH değişimiyle ilgili olabileceğini ileri sürmüşlerse de halen Pp' un etkisiyle oluşan sistemik ve peritoneal ROS oluşum mekanizması net olarak ortaya konulmuş değildir (51).

Yapılan çalışmalarda araştırmacılar laparoskopi cerrahi de CO2 ile uygulanan Pp'un etkisiyle parietal peritondaki lipid peroksidasyonun oluşumunun

non-siklooksijenaz ve lipoksijenaz yolları aktiflenerek, başladığı fikrinde birleşmektedirler (51).

Bu splanik iskeminin oluşumunda, splanik damar sisteminin mekanik kompresyonu yanında, vasoaktif hormonların (vasopresin gibi) salınımı ve hiperkapni gibi başka etkilerinde payı vardır (121, 127).

Laparoskopik cerrahide kullanılan Pp etkisiyle oluşan splanknik iskemi geçicidir, çünkü periton havasının boşaltılmasını sağlayan D işlemiyle birlikte karın içi basınç düşer ve sonrasında portal ven ile mikro vasküler kapiller yatağı mekanik baskısı ortadan kalkar splanik organ perfüzyonu düzelir (2).

Araştırmaların ortaya koyduğu, laparoskopik cerrahi uygulanmasındaki Pp ile oluşan iskemi ardından uygulanan D nedeniyle, reperfüzyonun başlamasıyla iskeminin düzelmesi bilgisi, araştırmacıların “Laparoskopik cerrahinin iskemi-reperfüzyon modelini temsil eder.” düşüncesini ileri sürmelerine neden olmuştur (2, 37, 42, 43).

Çalışmalar da ROS'ların reperfüzyon ile üretildikleri hipoksik ortamdan, etraf dokulara yayılması ve ulaştıkları dokularda hücreleri metabolik düzeyde etkilemesi “reperfüzyon hasarı” olarak tanımlanmış ve araştırmacılarca artık kabul görmüş bir hipotezdir (2, 7, 57, 124).

Klinik rutin uygulamalarda ve deneysel çalışmalarda ROS oluşumunun direkt ölçümlerinin yapılması laboratuvar tekniği açısından çok zordur (3, 52). ROS ölçümünün biyokimyasal teknik açıdan zorluğu, çalışmalar da farklı ROS bileşiklerinin etkisiyle oluştuğuna inanılan lipid peroksidasyon ürünü MDA'nın seviyesinin ölçülmesiyle oksidatif stres şiddetinin belirlenmesi, araştırmacıların sık olarak kullandıkları bir yoldur (19, 30, 37, 42, 51).

Lipid peroksidasyonun ürünü olan MDA, aynı zamanda araşidonik asidin siklo-oksijenaze yolunda bulunan tromboksan sentezinin bir yan ürünüdür (3, 130). Bu iki yol ile MDA'nın oluşması MDA'nın spesifik ve kantitatif bir lipid peroksidasyon olmadığını gösterir (21).

Dokuda cerrahi stresin nedeniyle oluşan ROS'lerin etkisiyle sadece MDA gibi biyokimyasal olarak ölçülebilen maddeler artmaz aynı zamanda, cerrahi stres, akut inflamasyon ve sepsis esnasında aktiflenen kupffer hücrelerinin ve makrofajların salgıladıkları, inflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1, IL-6), araşidonik asit metabolitleri, interferon gama (IFN- γ) ve platelet aktivasyon faktörleri de artar (40, 88).

Cerrahi travmanın etkisiyle inflamatuvar sitokinlerin ve ROS'lerinin ortaya çıkması sonucunda, organizmanın zaman içerisinde bunlardan kurtulması süreci başlar. Ancak organizmada zarar oluşturabilecek bu maddelerin oksidatif stresin şiddetine bağlı aşırı üretimi ve organizmanın bu maddeleri yeterli miktarda temizleyip arıtamaması sonucunda, hücrelerde apoptosis veya nekroza oluşabilir (32). Bu yüzden, postoperatif dönemde daha düşük oksidatif stres tepkisi oluşturmanın yararı vardır (43).

Laparotomi ile laparoskopinin karşılaştırıldığı bir rat deneyinde retiküloendotelial sistemdeki kupffer hücrelerinin immunolojik değişimleri kıyaslanmış, LPS ile stimüle edilmiş kupffer hücrelerinin sitokin üretiminin benzer olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada değişimden hücre içi sinyal iletimi sorumlu tutulmuştur (39).

Yapılan başka bir çalışmada laparotomi ile laparoskopik müdahaleler karşılaştırılmış laparoskopik uygulamanın postop döneminde makrofajlarca TNF α 'nin daha az üretildiği gösterilmiştir (122). Başka bir yayında laparoskopik cerrahinin kontrol grubuyla karşılaştırınca, aynı miktarda IL-6 ürettiği bulunmuştur (69).

İL-6 akut faz ana mediyatörü olarak doku hasarlarının hassas ve öncül bir markeridir. Dolaşımdaki IL-6 seviyeleri cerrahi travma ve buna bağlı cerrahi stresle doğru orantılı olduğunu ileri süren yayınlar vardır (69-70).

Çalışmamız da entübasyon ve hemodinamik takibin (kalp ritmi, saO₂) olması ve tüm deneklerde saO₂'nin normal sınırlarda seyretmiş olması bulduğumuz biyokimyasal verilerin, Pp'da kullanılan CO₂'in sistemik dolaşıma etkisiyle oluşan hiperkapni nedeniyle değiştiği şüphesini ortadan kaldırmıştır. Bunun nedeniyle hemodinamik takip ve entübasyon, bize elde ettiğimiz biyokimyasal parametreleri, uygulanan Pp tekniğine ve basınç seviyesine bağlı yorumlayabilme, çalışma gruplarını karşılaştırma şansını vermiştir.

Önceki çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda oksidatif stresi gösteren MDA, inflamasyon göstergesi olan TNF- α ve İL6 yanında Pp'un parietal peritondaki neden olduğu metabolik dengeyi tam olarak ortaya koymak için dokunun antioksidan durumunu gösteren GR ve GPR parametrelerine de baktık. Bu sayede sistemik dolaşımın etkisiyle renal, hepatik metabolik dengelerden etkilenmeden oksidan / antioksidan dengesini ortaya koymak istedik.

Çalışmamızda peritoenal dokunun yanında venöz kanda biyokimyasal parametrelerin seviyesine araştırma bütçe sınırlandırmasıyla bakılmadı. Ancak tüm deneklerin hemodinamik takibi operasyon boyunca normal seyrettiğinden, peritoneal dokudaki biyokimyasal parametrelerin sistemik metabolik durumdan etkilenmediğini düşündük.

Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz bulguları değerlendirdiğimizde Pp10, Pp15 gruplarında laparoskopinin 20. dk. alınan periton örneğinde bulunan inflamasyon göstergesi İL6, TNF- α 'nın ve oksidatif stresi gösteren MDA'nın kontrol grubundan istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Bunun yanında, periton dokusundaki antioksidan kapasiteyi gösteren GR ve GPX in kontrol grubuna göre istatistiki olarak farklı bulunmamıştır ancak kontrol grubuna göre

daha yüksek değerler tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bu bulgular bize tavşanda 11t/dk CO2 insuflasyonuyla 10 ve 15 mm Hg basınçta elde edilen Pp'un 20 dk içersinde peritoneal dokuda istatistik olarak anlamlı derecede ($p<0.05$) oksidatif stres ve inflamasyon oluştuğunu göstermiştir.

Laparoskopik cerrahinin 20. dk. gibi erken döneminde alınan peritoneal dokudan inflamatuvar sitokinlerin ve GR , GPX gibi antioksidanların bakıldığı bir çalışmanın literatürde olmaması nedeniyle bulgularımızı başka çalışma verileriyle kıyaslayamadık.

Ancak 20 dk'da oksidatif stres ve inflamasyonun başladığını gösteren istatistiki sonuçlar yanında antioksidan kapasiteyi gösteren GR ve GPX enzimlerinin, Pp10 ve Pp15 grubunda ilk değerlerine göre artış göstermesi ancak istatistiki olarak anlam bulunmaması, oksidatif stressi dengeleyecek endojen antioksidanların (3) ancak eşik oksidatif stres aşıldığında artmaya başladığını ya da oksidatif stressi artıracak, sınırlandıracak miktarda antioksidanın ilk 20 dk'da retilemediğini düşündürmektedir. Bulgularımızın ortaya koyduğu bu hipotezin başka çalışma verileriyle desteklenmesi gereklidir.

Ayrıca P2 de Pp10 ile Pp15 arasında peritoneal doku MDA, İL6, TNF- α arasında fark olmaması, bize düşük ve yüksek basınçlı CO2 ile oluşturulan Pp'un kısa dönemde oksidatif stres ve inflamasyon etkisi açısından bizim bulgularımızda farklılık göstermediğini ortaya koymuştur.

DeneySEL laparoskopik modelimizin 105. dakikasında alınan periton örneğinde bulunan MDA, İL6, TNF- α değerleri, Pp10 ve Pp15 gruplarında istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek olarak bulunmuştur. Aynı zamanda P3 de elde edilen GR, GPX değerinde istatistiki anlamlı derecede azalma mevcuttur ($p<0.05$).

P3 de ölçülen inflamatuvar sitokinler ve MDA'da belirgin artışla beraber, antioksidan kapasite göstergelerinin (GR, GPX) belirgin azalması, bize tavşanda

90 dk'da 1lt/dk %100 CO₂'un 10 ve 15 mmHg basınçla insuflasyonu ile oluşan Pp nedeni ile oluşan iskeminin, oksidatif stresi şiddetli olarak artırdığını, ardından uygulanan 15 dk. D sonrasında literatürdeki benzer çalışmalarda öngörülen (2, 3, 55, 128) şekilde reperfüzyon hasarının, oksidatif stresi şiddetlendirdiği düşünüldü. Literatürde bahsedilen iskemik reperfüzyon hasarı bizim çalışma verilerimize göre sadece ihtimaldir çünkü D öncesinde ve sonrasındaki metabolik durumu göstermeyen çalışma verilerimiz, net olarak D'un iskemik reperfüzyon hasarı oluşturduğunu ileri sürmek için yeterli değildir. Ayrıca bu durum bize Pp10 ve Pp15 grubunda, 105 dk. zamanında oksidatif stresin dokunun antioksidan kapasitenin etkisiyle artılamadığını aksine antioksidan maddelerin artık tükenmeye başladığını gösterdi (3).

Çalışmamızın materyal metoduna benzer laparoskopik tavşan modelinin kullanıldığı bir randomize kontrollü bir çalışmada, 1lt/dk %100 CO₂ insuflasyonu ile 5, 10, 15 mmHg basınçlarda Pp sağlanan 3 ayrı grup 30 dakikada bir alınan periton örneğinde oksidatif stres göstergesi olarak PGF₂ α çalışılmış ve farklı basınç uygulanan 3 grup karşılaştırılmıştır.

Bizden farklı olarak antioksidan kapasitenin ölçülmediği bu çalışmada ilk 60 dk'da Pp 10 ve Pp 15 gruplarında beraber oksidatif stresin giderek arttığını, daha sonra 90 dk kadar sadece Pp15 grubunda oksidatif stresin artmaya devam ettiğini sonra azalmaya başladığını, Pp10 grubunda ise 60 dakikadan itibaren oksidatif stresin azalmaya başladığını gösterilmiştir. Bu çalışma da Pp10 ve Pp15 grubunda desuflasyon öncesi ve sonrası alınan periton örneklerindeki PGF₂ α değerleri dikkat çekicidir. Yapılan çalışma, Pp15 grubunda desuflasyon uygulamasıyla oksidatif stresi gösteren PGF₂ α 'ın değerinin azaldığını, Pp10 grubunda desuflasyonla PGF₂ α değerlerinin arttığını göstermiştir.

Bizim çalışmamızda hem küçük ve sabit alana sahip tavşan parietal periton örnekleri ikiye ayrılıp, yarısı histopatolojik değerlendirmeye gönderiliyor olmasının sebebinin (biyopsi alanların büyük olması zorunluluğu gereği) yanında hem biyopsi alanlarının yakınlığına bağlı cerrahi streslerin örtüşmesi kaygısıyla hem

de çalışma bütçesinin sınırlılığına bağlı olarak eşit aralıklı olarak periton örneği alınamadı. Bu yüzden bizimle benzer metoda sahip tek çalışma olan Bentez de Souza ve arkadaşlarının bulgularıyla bizim çalışma bulgularımızı tam olarak birebir karşılaştıramadık

Laparoskopik tavşan modelinde farklı basınçlarda Pp uygulanan deneklerden, 6 ayrı zamanda oksidatif stresin ölçüldüğü peritoneal doku alınan Bentez de Souza ve arkadaşlarının çalışmasında operasyonda peritoneal dokuda oksidatif stresin giderek yükselmesi ile bizim P3 deki bulgularımız benzerdi ve hatta farklı olarak bizim verilerimiz, bu sürede Pp10 ve Pp15 grubunda anlamlı derecede inflamasyonun arttığını ve antioksidan kapasitenin tükendiğini gösterdi. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sadece 3 farklı doku değeri olması nedeniyle farklı basınçlarda desuflasyon ile oksidan ve antioksidan dengesinin, değişimini ortaya koyamadık.

Bizim bulgularımızın değerlendirmesinde P3'de bulunan değerler de Pp10 ve Pp15 grupları arasında istatistiki fark bulundu. 105. dk'daki bu bulgular inflamatuvar sitokinler (İL6- TNF- α) ve MDA'nın değerlerinin yüksek ve düşük Pp grubu arasında oksidatif stres ve inflamasyon açısından belirgin fark olduğunu gösterdi. Ayrıca bulgularımızda 105 dk Pp süresinde 15 mmHg kullanılan grupta antioksidan aktiviteyi gösteren GR ve GPX değerlerinde belirgin olarak düşüş görüldü. P3 de Pp10 ile Pp15 grupları GR ile GPX değerlerine göre karşılaştırıldığında Pp15 grubunda Pp10 grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede daha çok tüketim olduğu görülmüştür. Deneyin son anında 105. dakikada alınan periton örneğinde oksidatif stres göstergeleri arttıkça antioksidan aktivitenin azaldığını görülmüştür.

Dikkat çekici olarak çalışmamızda laparoskopinin 105. dakikasında (123) elde ettiğimiz değerlerin, Pp10 ile Pp15 grupları arasındaki farklılık bulunması, literatürde Pp sırasında yüksek IAP'li Pp'nin sebep olduğu zararlı etkilerin en aza indirmek amacıyla, "her hasta için aynı Pp basınç değerinin seçilmesi yerine,

ameliyat edilecek bölgenin yeterince görüşünün sağlanabileceği minimum IAP değerinin seçilmesi tavsiye edilmektedir” (18) hipotezini desteklemektedir.

Çünkü bulgularımız düşük ve yüksek basınçların ancak uzun süren operasyon süresinin son anlarında ortaya çıktığını göstermektedir. P2 ve P3 den elde ettiğimiz veriler bu konuda sınırlı olsa da operasyon süresi kısa laparoskopik müdahaleler de (diagnostik laparoskopi, laparoskopik tubal ligasyon gibi) basınç yüksekliğinin ek oksidatif strese neden olmadığı bunun yanında laparoskopiste daha iyi görüş ve cerrahi manüplasyon imkanı verdiği (18, 37) için kısa süreli laparoskopik uygulamalarda 15mm Hg basınçla uygulanan Pp yi tercih edilebilir.

P3 deki elde ettiğimiz parametrelerde elde edilen sonuçlar, Cevrioğlu ve arkadaşlarının laparoskopik rat modelinde operasyon sonunda aldıkları venöz kan ve peritoneal doku örneğinde bakılan biyokimyasal parametrelerle buldukları Pp15 grubunda Pp10 grubuna göre daha çok oksidatif stressin olduğunu gösteren sonuçlarla benzerdi (43).

Düşük (Pp10) ve yüksek (Pp15 basınçlı Pp un oksidatif stres etkilerini karşılaştırdığımız laparoskopik tavşan modelinde, iki farklı basınç uygulanan gruplardaki P1 ve P2 sonuçlarında farklılığın olmadığı, P3 değerlerinde bulunan lipid peroksidasyon göstergesi MDA nın ve inflamatuvar sitokinlerin (İL6 ve TNF- α) değerlerinin Pp15 de daha yüksek olduğu bunun yanında dokunun antioksidan kapasitesini gösteren GRve GPX seviyesinde ise istatistiki anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Yandaş hastalıkları olmayan hastalarda yapılan klinik çalışmada ortalama 86 dakikada alınan peritoneal örnekler ile ortalama 15 dakikada alınan peritoneal örneklerin arasında MDA seviyesinin farklı olmadığı bulunması, laparoskopik vakalarda CO2 insuflasyonun parietal peritonda lokal olarak MDA'yı artıracak oranda lipid peroksidasyonu oluşturmadığını gösterirken bu bulgular bizim 20 dakikada artan MDA değerlerimizle çelişmektedir.

Bu çelişkili canlı türünün farklılığından kaynaklanan ve tanımlanamayan metabolik dengelerle ilgili olabileceği yanında, tavşan gibi boyut olarak küçük

bir canlıda oksidatif stres ve inflamasyonu artıracak ve sınırlandırarak mikrovasküler yatağının aynı Pp basınçlarında bile daha çok mekanik baskıya maruz kaldığını bu canlılarda perfüzyonun daha çok azaldığını düşündürmektedir.

Laparoskopik kolesistektomi uygulanan 24 hasta üzerinde uygulanan randomize klinik bir çalışmada 10 mmHg Pp uygulanan grupta 15 mmHg Pp uygulanan grup arasında lipid peroksidasyon ve protein oksidasyon açısından karşılaştırılmış benzer seviyeler bulunmuş, bu bulgularla 15 ve 10 mmHg lik IAP'ler arasında oksidatif stres farkı olmadığı ileri sürülmüştür (47).

Ferrari ve arkadaşları iskeminin oluşturduğu hipoksinin hücre metabolizmasında bir dizi bozulmaya yol açarak, ROS oluşumuna neden olduğunu göstermişlerdir (131). Çalışmalardan elde edilen veriler, hipoksinin neden olduğu metabolik değişimlerden birinin de aerobik ATP sentezinin engellenmesi olduğunu ve hipoksinin mitokondriyal taşıyıcısı ubiquinonu indirgenmiş halde bıraktığı fikrini desteklemektedir (132).

Bu durum, mitokondrideki elektron (solunum) zincirinden sızan serbest elektronları artırırken, bu sızıntı sonradan iç mitokondriyal zar da hapsolmuş moleküllerin oksijenle reaksiyona girmesine ve süper okside radikallerin oluşmasına neden olur (3, 19, 21, 133).

Hipoksik ortam düzelir ise (bu durum laparoskopik uygulamada desüflasyon fazındaki reperfüzyon aşamasında görülür) yeniden oksijen gelişi mitokondrideki elektron (solunum) zincirini tekrar canlandırırken, son aşamada ihtiyaç duyulan ADP molekülü hızla tükendiğinden dolayı, sitokrom oksidaz'ı aracılığıyla verilen elektronda azalma gözlenecektir (3, 19, 21, 133).

Mitokondrideki elektron (solunum) zincirinin çalışmasını bozacak kadar hipoksik (iskemik) bir ortamın ardından, hipoksinin düzelmesi ve mitokondri solunum zincirine oksijenin ulaşmasıyla karakterize reperfüzyon aşamasında elektron (solunum) zinciri çok hızlı çalıştığı için hücresel düzeyde acil olarak

gerekli ATP oluşturmak amacıyla ADP tüketilmesi mitokondride elektron zincirine girmeyecek elektron fazlası oluşturur. Bu elektron fazlası ise kullanılmadığı için hipoksik ortam olmamasına iskemik ortamın düzelmesine rağmen iç zardaki artık moleküllerle etkileşerek kararsız moleküllerin yani ROS ların ortaya çıkmasını sağlarlar. Reperfüzyon hasarı diye açıklanan bu durum laparoskopinin deflasyon fazına uyar ve aerobik ortamdaki ROS oluşum çelişmesini ifade eder (3, 55, 124)

İskemi esnasında oluşan süper oksit radikallerinin etkisiyle oluşan elektron sızıntısı fikri, insuflasyon aşamasındaki çalışmamızda gözlenen kademeli MDA artışını ve bunun tetiklediği antioksidan aktivite artmasını ve 105 dakika süre sonunda antioksidan kapasitenin tükenmesini açıklayabilir (3).

Bizim çalışma verilerimiz, bu basınçlarda akut kan akışının etkisiyle splanknik organlarda hücresel düzeylerde kademeli olarak hipoksik ortamın oluşması ansızın meydana gelen ilk “beklenmedik metabolik sarsıcı etki” ardından, doku antioksidan savunmalarının kademeli olarak yeniden oluşmuş olabileceği fikrini, çalışmalarındaki verileri açıklamak ileri süren Bentes de Souza ve arkadaşlarını desteklememiştir.

Bu düşünce sonraki süreçte gelen ek cerrahi hasarlanma olmadıkça yani ek oksidatif stresin oluşturduğu ROS üretimi olmadıkça (ki laparoskopide bu durum karın içi basıncı artıran insuflasyon sonrası devam ederek Pp aşamasına uyar), saldırı sonrası toparlanan dengede, antioksidan arıtma işleminin etkisiyle Pp devam etse de, oksidatif stres göstergelerinin hızlı bir şekilde düşüş gösterir fikrini de doğurmaktadır (3) ancak cerrahi süre uzadıkça oksidatif stressin artışı ve antioksidan aktivitenin tükendiği gözlenmiştir.

Daha uzun süre Pp boyunca, doku antioksidan savunma sisteminde ara basamakları regüle eden protein, hücre içi iletim sistemi ve mRNA protein sentezi sistemini açıklayacak gelecekteki moleküler tıp biliminin incelemeleri, bize daha net bulguları verecek, bu sonuca neden olan mekanizmayı açıklayacaktır.

Bizim verilerimiz CO₂ insuflasyonu ile oluşan Pp'un etkisiyle oluşan oksidatif stres oluştuğunu göstermektedir. "Acaba hangi etki ve etkiler bu oksidatif stressi oluşturmuş olabilir?" sorusuna literatür bilgileri ve elde ettiğimiz verilerin ışığında şu cevabı verebiliriz.

Sistemik dolaşımdaki oksijen terminal hücre ortamına ulaştığında, hücreler arasında pO₂ 40 mmHg ve hücre içi pO₂ ise ortalama 23 mmHg'dir ki bu hücre içi metabolik işlemleri tam olarak desteklemeye yeterlidir (134).

Pp sırasında, %99 CO₂ verildiğinde, karın içi basıncının 50 – 75 katı kadar pCO₂ oluşur (ortalama 760 mmHg) ve bu durumda pO₂ ise 0'dır (3). Bunun sonucu olarak, oksijen hücre dışı ve içinden yani çok yoğun olduğu alandan az yoğun olduğu karın boşluğuna sızma eğilimi gösterecektir (3). Bu da, hücre dışı ve içi pO₂ düzeylerinde düşüşe neden olacak ve sadece batın içinde yoğun konsantrasyonda CO₂ bulunmasının etkisiyle (kapiller damar ağının mekanik oklüzyonundan bağımsız hipoksik ortam oluşturup ROS üretimi zemini oluşturacaktır (3).

Eğer hücreye oksijene kanı ulaştıran mikrosirkülasyonda bir bozukluk oluşmıyorsa, hücrelere oksijen desteği kan akımı tarafından sürdürülür. Bu da hipoksik ortamı ortadan kaldırarak normooksik koşullar oluşturur ki buda oksidatif stresin neden olduğu ROS üretimini engeller. Ancak ilk batın içi CO₂ insuflasyon etkisiyle oluşan hücre hipoksik ortam Pp'la sağlanan nihai karın içi basıncının splanik dolaşımın mekanik baskı etkisiyle oksijene kan mikrosirkülasyonu bozarak, sistemik dolaşımın oksijen desteğine engel olur (28, 91, 92, 95, 124). Bu durumda hücre hipoksi artar ve giderek şiddetlenen oksidatif stres de ROS üretimini artırır. Bu süredeki karın içi pCO₂ yüksekliği ise hücre içi ve hücreler arası ortamdaki karın içi ortama durmadan O₂'nin sızmasına hücre hipoksinin devam etmesine neden olur. Çünkü karın içi konsantrasyonda CO₂ ortamı hücre içi ve hücreler arası ortamdaki oksijeni çekecek 0 pO₂ basıncına sahiptir. Buda oksidatif stressi şiddetlenmesine neden olur.

Çalışmamızdaki düşük basıncı temsil eden (Pp10) ve yüksek basıncı temsil eden (Pp15) gruplarını kıyaslandıktan sonra, İPPp15 grubu verilerini değerlendirdiğimizde uzun süre süren laparoskopi uygulamalarda LİPKM nin oksidatif stressi sınırladığını hatta kontrol grubuna yaklaştırdığını söyleyebiliriz.

Bu bulgularımız ilk LİPKM'ni uygulayan Yılmaz ve arkadaşlarının çalışmalarına benzerdir (42). Ayrıca sonra LİPKM'nin cerrahi organ hasarını sınırladığını ortaya konulduğu çalışma verilerini de desteklemektedir (37).

Çalışma verilerimiz rat modelinde Pp10 ve Pp15 grubu yanında İPP15 grubunda oksidatif stres etkilerini ve antioksidan maddelerin değişimini inceleyen Cevrioğlu ve arkadaşlarının randomize kontrollü deneysel çalışmaları verileriyle aynı paralellikte düşük basınç Pp (Pp10) yerine daha yüksek Pp ile uygulanan laparoskopilerden önce uygulanan LİPKM'nin oksidatif stressi azalttığını göstermiştir.

Cevrioğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda laparoskopik uygulanmanın başında ve 20. dakikasında periton örneklerinin alınması, bize LİPKM mekanizması hakkında net aşamaları ortaya koyamasa da, İP'nun laparoskopide uygulandığında oksidatif stresde ve antioksidan aktivitede yaptığı değişimleri operasyon süresinde ortaya koyma yönüyle anlamlıydı.

P2'de elde ettiğimiz verilerde İPPp15 grubunda kontrol grubuna benzer oksidatif stres ve inflamasyon tespit edildi, antioksidan kapasiteyi gösteren GPX değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı yükseklik bulunurken, GR değerleri yükselmesine rağmen, bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi.

20. dakikada LİPKM uygulanmasının hemen sonrasında alınan periton dokusundaki bu verileri karşılaştıracığımız bir çalışma literatür de mevcut değildi.

Ancak bu veriler ile diğer LİPKM uygulanmış çalışma verileriyle birleştirdiğimizde LİPKM'sının uygulandığında organizmanın peritonunda ek bir oksidatif stres ve inflamasyon oluşturmadığını ancak uygulandığı kısa sürede bile antioksidan kapasiteyi artırdığını söyleyebiliriz. Bu bulgu önceki LİPKM'sının yararını ortaya koyan çalışmaların (37, 42, 43) oksidatif stresi azalttığını ortaya koyan verileriyle de desteklenmektedir.

P2 deki antioksidan aktiviyeti ölçen GR ve GPX deki bir değer in istatistiki anlamlı olması, her ikisinin de LİPKM'sıyla değerlerinin arttığını gösteren verilerle şöyle açıklayabiliriz; GR, GPX ile beraber artmış ancak, GR artışıyla beraber oksidatif stressi arındırmak sınırlandırmak için bir miktar dahi olsa tüketilmiş bunun etkisiyle de şu anda tanımlayamadığımız karmaşık ara mekanizmalarla GPX'in daha çok aktive olmuş ve artmıştır gibi ek çalışma desteğine muhtaç olan bir hipotezle açıklayabiliriz.

İnsandan boyut olarak küçük ve farklı bir tür canlı olan tavşan modelinde bulduğumuz bu verilerin klinikteki uyarlamasının etkisi tartışmalıdır.

İPPp15 grubunda uygulananın 125. dakikasında alınan periton örneğindeki bulgular bize, tavşanda LİPKM uygulamanın uzun dönemde uygulanan Pp'un neden olduğu inflamasyon ve oksidatif stressi kontrol grubuna eşit düzeyde sınırladığını göstermiştir.

Bu bulgu rat laparoskopik modelinde periton örneğinde oksidatif stres göstergelerine bakan Cevrioğlu ve arkadaşlarının çalışma verileriyle benzerdir. Burada dikkat çeken durum İPPp15 grubunun P3 deki endojen antioksidan aktivite seviyesiyle kontrol grubunun antioksidan seviyesinin benzer olmasıdır. Bu bulguda periton örneğinde antioksidan aktivite ölçen Cevrioğlu ve arkadaşlarının bulgularıyla benzerdi ancak bu durum 20. dakikadaki dokuda bulunan GR ve GPX değerlerinin yüksekliği yanında GPX'in yüksekliğinin istatistiki anlamlı olması, bize LİPKM'sının antioksidan aktiviteyi kısa sürede artırdığını, ardından gelecek uzun süreli cerrahi stres sebebi Pp'un oluşturduğu

oksidatif stressi yani ROS'ları artan antioksidan aktiviteyle artırılıp sınırlandırdığını, bu arada antioksidan aktivitenin de bir süre tüketilip operasyondaki ilk seviyelerine gerilediğini düşündürsede bu konuda ek çalışma verilerine ihtiyaç vardır.

LİPKM uyguladığımız İPPp15 grubu ile Pp10 ve Pp15 grubunun P3 değerlerini karşılaştırdığımızda, Cevrioğlu ve arkadaşlarından farklı olarak, biz çalışmamızda Pp10 grubu ile İPPp15 grubu arasında istatistiki olarak benzer oksidatif stres bulamadık ancak Pp10 grubundaki düşük basıncın uzun dönemde, yüksek basınca (Pp15) göre operasyon sonunda alınan dokuda değerlerde belirgin inflamasyon ve oksidatif stres sınırlanması var idi. Hatta P3 bulunan değerlerde Pp10 grubunda TNF- α değerleri kontrol grubuna benzerdi.

Cevrioğlu ve arkadaşlarının, rat laparoskopi modelinde uygulama sonunda aldıkları kan ve doku örneklerinde Pp10 grubu ile İPPp15 arasında oksidatif stres farkı bulmamışlardır.

Bizim tavşan modelinde yaptığımız çalışmada uygulama sonunda alınan doku örneği P3 de bakılan biyokimyasal parametreler Pp10 ile İPP15 arasında fark olduğunu ortaya koymuştur. Çalışma modelleri aynı olan iki çalışmada farklı sonuçlar bulunmasını biz, kullandığımız canlı türü farklılığı beraber daha çok Pp süre farklılığına bağlıyoruz. Çünkü cerrahi metodumuza göre diğer çalışmada 60 dakika Pp uygulanırken, biz kontrol grubu hariç 3 gruba standart olarak 90 dakika Pp uyguladık. Buda diğer çalışmanın 1/3 oranında daha az cerrahi stresle yapıldığını gösterir.

Çalışma verilerinde dikkat çekici başka bir noktada, incelenen homojen dokularda gruplar olarak oksidatif stres ve inflamatuvar markerlerde belirgin farklılıklar olmasına rağmen, aynı anda alınan periton dokusunun İNOS boyası ile boyandıktan sonra hafif mikroskopla yapılan incelemelerde, mezotel hücreleri bütününde ve organel düzeyinde değişikliğin saptanmamasıydı. Cevrioğlu ve arkadaşlarının rat modelinde yaptığı benzer bir çalışmada da gruplar arasındaki

biyokimyasal parametrelerin farklılığına rağmen peritoneal dokuların mikroskopik değerlendirmesinin de histopatolojik farkın bulunmaması ve hücresel mimaride ışık mikroskobu düzeyinde değişimin olamaması (muhtemelen erken dönemde olduğu için) bizim histopatolojik bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Cevrioğlu ve arkadaşları çalışmalarında ışık mikroskobunda görülemeyen bu değişimin elektron mikroskobunda fark edilebileceğini ileri sürmektedirler (43).

Ek çalışmalar olmadan LİPKM'nin kliniğe uyarlanması zor olsa da, çalışmada elde ettiğimiz ve bizim modelimizle benzer çalışmaların verileri berberce değerlendirdiğimizde, bize bazı kliniğe uyarlanabilecek ipuçları vermiştir ancak bu bilgilerinde ek çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Kısa sürecek (20 dk gibi) küçük laparoskopik uygulamalar ve kısa süren diagnostik laparoskopilerde yüksek basınç ile düşük basınç Pp'un oluşturduğu oksidatif stres ve inflamasyon birbirinden farklı değildir. Laparoskopist izlemin rahatlığı, daha özgür manüplasyon ve daha az komplikasyon sağladığı (18, 37) için ve kısa süreli uygulamalarda yüksek basınç olarak 15 mmHg seçilebilir.

Uzun sürecek laparoskopik uygulamalarda (60 dk'dan çok sürecek) yüksek ve düşük basınçlı Pp un arasında belirgin oksidatif stres ve inflamasyon farkı olduğu için uzun süreli uygulamalarda yüksek basınç yerine düşük basınç olarak 10 mmHg seçilebilir.

Şu ana kadar yapılan sınırlı çalışmaların verileriyle LİPKM klinikteki yeri net olarak tanımlanıp kliniğe uyarlanamamış ise de bizim verilerimiz tavşanda uygulanan LİPKM'nin organizmaya ek bir cerrahi stres yüklediğini kısa dönemde antioksidan tetiklemeyi peritoneal dokuda başlattığını uzun süreli uygulamalarda da oksidatif stressi ve inflamasyonu azalttığını göstermiştir.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz bulgular, laparoskopide uygulanan uzun dönem Pp'a bağlı gelişen oksidatif stres ve inflamatuvar sitoksin tepkisinin azaltılmasında, 10

dk Pp + 10dk D olarak tanımladığımız LİPKM'un etkin olduğunu göstermiştir. Şu ana kadar farklı organlarda İP'un olası farklı mekanizmalarla metabolik koruyucu etkisinin olduğu ileri sürülmüş ise de, hala İP organlara spesifik mekanizmaları netleşmemiştir. Şu ana kadar çalışmaların İP mekanizmasında ilintili olabileceği hakkında fikir yürüttüğü maddelerin işleyişini değerlendirebilen ve hücre içi sinyallerinin değişimini ortaya koyabilen moleküler tıp alanındaki gelişmeler bu konudaki bilgilerimizi netleştirecektir.

İL-6 ve TGF- α 'nın hayvan çalışmalarında cerrahi travmaya bağlı adezyon oluşumuyla ilişkisini ortaya koyan çalışmalar mevcut (23) olsa da bu inflamatuvar sitokinlerin adezyon oluşumundaki net rolü bugün itibariyle ortaya konulmamıştır (23). Ancak postop erken dönemde İL-6'nın seviyesinin azaltılmasının adezyon oluşumunu baskılayacağı fikrini ileri süren (23) bilim adamlarının yanında, adezyonla ilişkili olabileceği çalışmalarca (24) desteklenen sitokinlerin (İL-1a, İL-1b, İL-8) TGF- α etkisiyle regüle edildiğini gösteren yayınlar (25, 26), bize, “ LİPKM' sının laparoskopik inflamasyon oluşumunu baskıladığını” ortaya koyan çalışma verilerimizin de ışığında LİPKM'sının organizmanın laparoskopik cerrahide oksidatif stressten koruyan, bir endojen mekanizmayı başlatılmasından yanında aynı zamanda, geç dönemlerde oluşacak adezyonları engellenmesinde de karmaşık sitokin mediatörlerinin ilişkilerini değiştirerek adezyonların oluşumunu da etkileyebileceğini düşündürmüştür. Bu konunun netleşmesi için ek çalışma verilerine ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda LİPKM'sının antioksidan seviyesini artırdığının görülmesinin yanında bilimsel araştırmalarda yaş ile antioksidan kapasitenin azalması (135) ve genç hastalara göre aynı stresle uygulanan laparoskopinin yaşlılarda artan bir KC iskemisine yol açtığı (136) sonuçlarının bulunması, LİPKM'sının laparoskopinin ileri yaşlı hastalara uygulanabilirliğini artıracak fikrini ileri süren yayınları (37, 42, 43) desteklemektedir.

Çalışmamızda bulduğumuz bu verilerle bizde sadece çalışmalarında LİPKM uygulayan araştırmacılar gibi LİPKM'dan elde edilen organizmayı koruyucu etkilerin olduğunu düşünmekteyiz (37, 42, 43).

Sonuçta LİPKM'sının, laparoskopi esnasında alınan anesteziye ek olarak, Pp etkisiyle oluşan kalbe gelen kan dönüşünün azalması, kabin ön yükünün artması, splanik organların iskemisi şartlarının, yanında operasyona bağlı intravasküler volümün azalması (18) ve olası laparoskopik komplikasyon yüküne altına girmeyeceğini düşünülen ileri yaşlı, organ fonksiyonları yetersiz (KVS, hepatik, renal...vb), genel durumu bozuk hastalarda bizi laparoskopik uygulamalara yaklaştıracak alternatif bir metod olabileceğini düşünmekteyiz.

LİPKM daha az organ hasarlanması ve daha az oksidatif stres ve inflamasyona neden olsa da bizim verilerimizde tespit ettiğimiz LİPKM'sının kısa sürede peritoneal dokuda endojen antioksidan aktivitenin artığının bulunması, jinekoloji rutinde sıklıkla morbitite nedeni olan, kadın doğumdaki en sık operasyonlardan bir olan sezeryanın uygulamasında komplikasyon oranını artıran ve infertilite nedeni olan (diagnostik amaçlı yapılan laparoskopi uygulamalarının büyük kısmı infertil olması da düşünülürse) adezyonların eksojen verilen antioksidanlarla sınırlandırıldığı düşünülürse (117, 129), uzun sürecek laparoskopik uygulamaların yanında kısa sürecek diagnostik laparoskopilerde bile LİPKM kullanılması düşünülebilir. Bu görüşün farklı tür canlılarda ek çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

VI. SONUÇ

Laparoskopik tavşan modelinde yaptığımız çalışma verileri, endikasyonu itibariyle kısa sürecek laparoskopilerde, yüksek basınçla (15 mm Hg) sağlanan Pp kullanılmasının cerrahi manüplasyon rahatlığı, buna bağlı komplikasyon azalması ve laparoskopi süresi azalması ihtimaline dayanılarak önerilebileceği, endikasyonları itibariyle uzun sürecek laparoskopilerde de düşük basınçla (10 mm

Hg) sağlanan Pp kullanılmasının daha az oksidatif stres ve inflamasyon oluşturduğu için önerilebileceği göstermiştir.

LİPKM daha az inflamasyon ve oksidatif stres oluşturduğu için yandaş hastalığı olan renal, hepatik, KVS fonksiyonları yetersiz veya sınırlı hastalarda ve kardiyak fonksiyonları seniliteye bağlı azalmış yaşlı hastalarda önerilebilir.

Çalışmada elde ettiğimiz verilerde LİPKM kendisi ek bir oksidatif stres oluşturmadan “endojen antioksidan aktiviteyi kısa sürede artırması” bizce, jinekolojik adezyon mekanizmasını inceleyen araştırmalara yön verecek bir bilgidir.

Tüm sonuçların insan boyutuna yakın domuz, koyun gibi canlılarda ek çalışmalarla desteklenmesi, deneklerden alınan peritoneal doku örnekleriyle oksidatif stressin değişim seyrinin ortaya konulması gerekmektedir.

Gelecekte yapılacak çalışmalarda LİPKM’ını oluşturan Pp’un ve desuflasyonun sürelerinin yanında Pp uygulanan basıncın seviyesinin hastanın kilosuna, yaşına, kardiyak fonksiyonlarına ve yandaş hastalıklarına göre en az cerrahi stres en çok metabolik ve cerrahi avantaj sağlayacak şekilde uyarlanması gerekmektedir.

Operasyon süresini artırmasına rağmen organizmayı koruyucu etkisi çalışma verileriyle gösterilen LİPKM’nın yerini alabilecek olası farmakolojik ajanlar (opioid etkili ajanlar, antioksidan etkili ajanlar gibi) gelecekte araştırmacıların konusu olacaktır.

VII.ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı değişik laparoskopik basınç manevralarını oksidatif stres oluşturma şiddeti açısından karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Ağırlıkları 3-4 kg arasında olan 36 beyaz Yeni Zelanda cinsi erişkin, erkeklerden izole edilmiş dişi tavşan çalışmaya alındı. Tavşanlar randomize olarak 4 gruba ayrıldılar. Gruplar, Kontrol, 10 mmHg ile pnömoperitoneum uygulanan grup (Pp10),15 mmHg ile pnömoperitoneum uygulanan grup (Pp15), laparoskopik iskemik prekondisyon uygulanıp ardından 15 mmHg uygulanan grup (İPPp15) şeklinde oluşturuldu. Çalışmamızda insuflasyon amacıyla standart olarak 1 lt/dk insuflasyon hızında %100 CO2 gazı kullanıldı. Kontrol grubuna sadece 105 dk anestezi uygulandı. Pp10 grubuna 10 mmHg ile 90 dk pnömoperitoneum ve ardından 15 dk desuflasyon uygulandı. Pp15 grubuna 15 mmHg ile 90 dk pnömoperitoneum ve ardından 15 dk desuflasyon uygulandı. İPPp15 grubunda ilk olarak laparoskopik iskemik prekondisyon manevrası uygulandı ardından 90 dk 15 mmHg ile pnömoperitoneum ve 15 dk desuflasyon uygulandı. Çalışmada laparoskopik iskemik prekondisyon 10 dk 15 mmHg pnömoperitoneum ardından 10 dk desuflasyon şeklinde tanımlandı. Her dört gruptanda deneyin başlangıcında, deneyin 20. dk'sında ve deneyin sonunda laparoskopik olarak parietal periton biyopsisi alındı. Alınan peritoneal dokularda biyokimyasal olarak MDA (Malonyl-dialdehid), İL-6 (İnterlökin 6), GR (Glutatasyon Redüktaz), GPX (Glutatasyon Peroksidaz), TNF- α (Tümör Nekroz Faktör alfa) çalışıldı ve gruplar karşılaştırıldı. Her peritoneal biyopsi dokusuna histopatolojik değerlendirme yapıldı.

Bulgular : Peritoneal doku biyokimyasal parametreleri, İPPp15 grubunda iskemik prekondisyon manevrasıyla birlikte antioksidan aktivitenin arttığını ve deney sonunda diğer gruplara göre daha az oksidatif stress daha az inflamasyon geliştiğini göstermiştir. Aynı zamanda biyokimyasal değerler kısa vadede Pp10 ve Pp15 grubunda oksidatif stress farkı olmadığını ancak uzun dönem laparoskopik

uygulamalarda düşük ve yüksek basınç arasında farkın ortaya çıkmaya başladığını göstermiştir.

Sonuç: Uzun süreli yüksek basınçlı laparoskopik uygulamalarda pnömoperitoneum daha çok oksidatif stress ve daha çok inflamasyon oluşturmaktadır. Laparoskopik cerrahinin başında laparoskopik iskemik prekondisyon manevrası uygulandığında daha az oksidatif stress ve daha az inflamasyon ortaya çıkabilir.

VIII. SUMMARY

A RESEARCH ON THE EFFECT OF LAPAROSCOPIC ISCHEMIC PRECONDITION MANOEUVRE ON OXIDATIVE STRESS IN RABBITS

Purpose : The purpose of this study was to compare several laparoscopic stress manoeuvres with regard to formation severity of oxidative stress.

Method and materials : 36 white New Zealand grown-up female rabbits, isolated from the males, weighing 3 - 4 kg, were obtained. They were randomly assigned into four groups: the control group, the 10 mmHg pneumoperitoneum applied group (Pp10), the 15 mmHg pneumoperitoneum applied group (Pp15), following the application of laparoscopic ischemic precondition the 15 mmHg applied group (İPPp15). In this study, in order to generate insufflation, 100% CO₂ gas was used at a standardized 1 lt / min. insufflation speed. The control group was applied anesthesia for only 105 minutes. The Pp10 group and the Pp15 group were respectively subjected to a 90-minute pneumoperitoneum with 10 mmHg and 15 mmHg followed by a 15-minute desufflation. To the İPPp15 group, first, Laparoscopic ischemic precondition manoeuvre, then, with 15 mmHg, pneumoperitoneum and a 15-minute desufflation were applied. Laparoscopic ischemic precondition in this research was considered as a 10-minute desufflation after a 10-minute 15 mmHg pneumoperitoneum. Periatel periton biopsy was taken laparoscopically at the beginning and at the 20th minute of the experiment, in all four groups, With the peritoneal tissues taken, MDA (Malonyl-dialdehyd), İL-6 (Interlocking 6) GR (Glutatayon Reductase), GPX (Glutatyon Peroxidase), TNF-a (Tumor Necrose Factor alpha) were biochemically observed, and the groups were contrasted. Each peritoneal biopsy tissue was valued histopatologically.

Results : Compared with other groups, the biochemical parameters of peritoneal tissue in İPPp15 group, showed an increase in antioxidane activity along with the ischemic precondition manoeuvre, and less oxidative stress and less inflammation were observed at the end of the experiment. In the same way, biochemical values in the short-term, in groups Pp10 and Pp15, indicated no oxidative stress, but in

the long-term laparoscopic applications a difference between low pressure and high pressure emerged at initial level.

Conclusion : At the beginning of laparoscopic surgery, when laparoscopic ischemic precondition manoeuvre is applied, less oxidative stress and less inflammation emerge. In short-term laparoscopic applications, low pressured pneumoperitoneum has no effect on the decrease of oxidative stress and the severity of inflammation. In long-term laparoscopic applications, on the other hand, high pressured pneumoperitoneum causes more oxidative stress and more inflammation.

IX.KAYNAKLAR

1. Molinas CR, Binda MM, Mailova K, Koninckx PR. The rabbit nephrectomy model for training in laparoscopic surgery. Hum Reprod. 2004 Jan;19:185-90
2. Glanzounis GK, Tselepis AD, Tambuki AP, Trikalinos TA, Manadaki AD. Laparoskopik surgery-induced changes in oxidative stress markersin human plasma. Surg Endosc 2001;15,1315-1319.
3. Bentes de Souza AM, Chiu Wang C, Chu Yan C, Rogers MS. The effect of intra-abdominal pressure on the generation of 8-iso prosglandin F2 α during laparoscopy in rabbits. Human Reproduction.2003; 18:2181-88
4. Vittimberga FJ, Foley DP ,Meyers WC. Laparoskopik surgery and the sysytemic immune response. Ann Surg. 1998;227,326-334.
5. Holmdahl L, Ivarsson ML. The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis on peritoneal tissue repair. Eur J Surg.1999;165:1012-1019.
6. Gupta A , Watson DI. Effect of laparoscopy on immune function. Br J Surg. 2001;34:1296-1306.
7. Li C,Jackson RM. Reactive species mechanisms of celluar hypoxia – reoxygenation injury. Am J Physiol Cell. 2002; 282:227-241
8. Kışnişci HA. Gökşin E. Durukan T. Üstay K. Ayhan A: Gürgan T: Önderoğlu LS. Temal Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara, 1996
9. Çiçek NM. Akyürek C. Çelik Ç. Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara, 2006.

10. Sutton C, Diamond M: Endoscopic surgery of Gyneecologist, Spiringer Verlag, 1993.Berlin
11. Mencaglia L, Waitiez A: Manuel of Gynecological Laparoscopic Surgery, World Medical Press, 2002. New York.
12. Kadayıfçı O, arıdoğan N, Çetin MT.: Laparoskopı, Histreskopi ve Tüp bebek 1994, Adana
13. Cushieri A, Buess G, Perissat J. Operative Manual of Endoscopic Surgery; Springer Verlag 1992,Berlin.
14. Andersen Dana K, Thomas G, Schirmer B, Soper Nathaniel (eds): advnces in minimally invasive surgery, World Medical Pres, 1993. New York.
15. Nezhat C, Nezhat FR, Ramirez CE. Safe laser endoscopic excision or vaporisation of peritoneal endometriozis. Fertil Steril 1989; 52:149.
16. Hashizyme M. Laparoscopic Splenectomy: Am. J. of. Surg. 1994; 167: 611-614.Surg Endosc 1996; 10:324-326
17. Berci G. Complications of laparoscopic surgery. Surg Endosc. 1994; 8: 165-166.
18. Neudecker J, Sauerland S, Neugebauer E, Bergamaschi R, Bonjer HJ, Cuschieri A, Fuchs KH, Jacobi Ch, Jansen FW, Koivusalo AM, Lacy A, McMahon MJ, Millat B, Schwenk W.Surg The European Association for Endoscopic Surgery clinical practice guideline on the pnömoperitoneum for laparoscopic surgery. Endosc. 2002;16:1121-43.

19. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yayınları, Kuzucular Ofset, Konya, 1995.
20. Champe PC, Harvey RA. Lippincott, Nobel tıp kitabevleri Ltd şti. İstanbul, 1997.
21. Burtis CA, Ashwood ER Tietz Textbook of clinical chemistry, third edition, WB Saunders Company, 1999; 549-593.
22. Gülmezoğlu E, Ergüven S. İmmunoloji, Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. şti, Ankara, 1994.
23. Holmdahl L, Ivarsson ML. The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis in peritoneal tissue repair. Eur J Surg. 1999;165(11):1012-9.
24. Lanfrancione L, Boraschi D, Ghiara P. Human peritoneal mesothelial cells produce many cytokines (granulocyte colony-stimulating factor (CSF), granulocyte-monocyte-CSF, macrophage-CSF, İL-1 and İL-6) and are activated and antibodies to transforming growth factor- β 1. Blood. 1992; 80: 2335-2842.
25. Betjes MG, Tuk CW, Struijk DG. İL-8 production by human peritoneal mesothelial cells in response to tumor necrosis factor- α , İL-1, and medium conditioned by macrophages cocultured with staphylococcus epidermidis. J Infect Dis 1993; 168: 1202-1210.
26. Douvdevani A, Rapoport J, Konforty A, Argov S, Ovnat A. Human peritoneal mesothelial cells synthesize İL-1 alpha and beta. Kidney Int. 1994; 46: 993-1001.

27. Jonjic N, Peri G, Bernasconi S. Expression of adhesion molecules and chemotactic cytokines in cultured human mesothelial cells. *J Exp Med.* 1992; 176: 1165-1174.
28. Sharma KC, Kabinoff G, Ducheine Y. Laparoskopik surgery and its potential for medical complications. *Heart Lung* 1997; 52-64.
29. Kaidi AA, Gurchumelidze T, Nazal M, Figert P, Vanterpool C, Silva Y. Tumor necrosis factor-alpha: a marker for peritoneal adhesion formation. *J Surg Res.* 1995; 58: 516-518.
30. Yilmaz S, Polat C, Kahraman A, Koken T, Arikan Y, Dilek ON, Gokce O. The comparison of the oxidative stress effects of different gases and intra-abdominal pressures in an experimental rat model. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2004 Jun;14:165-8.
31. Davies KJA. Oxidative stres, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life.* 2000; 50:279-289.
32. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antiooxidant. *Exp Pyhsiol.* 1997; 82:291-295
33. Lieber CS. Role of oxidative stress and antiooxidant therapy in alcoholic and nonalcoholic liver diseases . *Adv Pharmacol.* 1997; 38:601-628
34. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischaemia reperfusion injury. *Am J Surg.* 2001;181:160-166
35. Haugen E,Nath KA. The involvement of oxidative stress in the progresion of renal injury .*Blood Purif .*1999; 17: 58-65

36. Walker LM, York JL, Imam SZ, Ali SF, Muldrew KL, Mayeux PR. Oxidative stress and reactive oxygen species generation during renal ischaemia. *Toxicol Sci.* 2001;63:143-148
37. Yilmaz S, Koken T, Tokyol C, Kahraman A, Akbulut G, Serteser M, Polat C, Gokce C, Gokce O. Can preconditioning reduce laparoscopy-induced tissue injury? *Surg Endosc.* 2003; 17:819-24.
38. Chekan EG, Nataraj C, Clary EM, Hayward TZ, Brody FJ, Stamat JC, Fina MC, Eubanks WS, Westcott CJ. Intraperitoneal immunity and pnömoperitoneum. *Surg Endosc.* 1999;13(11):1135-8.
39. Vittimberga FJ, Nolan B, Perugini RA, Spector L, Callery MP. Laparoscopic surgery and Kupffer cell activation. *Surg Endosc.* 2000;14:1171-6.
40. Diebel LN, Saxe J; Dulchavsky SA. Effect of intra-abdominal pressure on abdominal wall blood flow. *Am. Surg.* 1992; 58:573-576.
41. Sage JG, Schulze S, Moller P. Prospective randomized study of laparoscopic versus open colonic resection for adenocarcinoma . *Br J Surg* 1997;84:391-6.
42. Yılmaz S. Ateş E. Polat C. Köken T. Tokyol C. Akbulut G. Gökçe Ö. Ischemic preconditioning decreases laparoscopy-induced oxidative stress in small intestine. *Hepato-gastroenterology.* 2003; 50:979-982.
43. Cevrioglu AS, Yilmaz S, Koken T, Tokyol C, Yilmazer M, Fenkci IV. Comparison of the effects of low intra-abdominal pressure and ischaemic preconditioning on the generation of oxidative stress markers and inflammatory cytokines during laparoscopy in rats. *Hum Reprod.* 2004;19(9): 2144-51.

44. Polat Ç, Yılmaz S, Akbulut G. Laparoskopik cerrahide pnömoperitonumun sistemik etkileri Endoskopi laparoskopisi ve minimal invaziv cerrahi 2003; 10:13-22
45. Zhang Y, Wu YX, Hao YB, Dun Y, Yang SP. Role of endogenous opioid peptides in protection of ischemic preconditioning in rat small intestine. Life Sci. 2001;68:1013-9
46. Polat C, Arıkan Y, Vatansev C, Akbulut G, Yılmaz S. The effects of increased intraabdominal pressure on colonic anastomoses. Surg Endosc. 2002; 16(9):1314-9.
47. Polat C, Yılmaz S, Serteser M, Koken T, Kahraman A, Dilek ON. The effect of different intraabdominal pressures on lipid peroxidation and protein oxidation status during laparoscopic cholecystectomy. Surg Endosc. 2003;17(11):1719-22.
48. Bentes de Souza AM, Wang CC, Chu CY, Britton-Jones CM, Haines CJ, Rogers MS. In vitro exposure to carbon dioxide induces oxidative stress in human peritoneal mesothelial cells. Hum Reprod. 2004;19(6):1281-6.
49. Akbulut G, Polat C, Aktepe F, Yılmaz S, Kahraman A, Serteser M. The oxidative effect of prolonged CO₂ pneumoperitoneum on renal tissue of rats. Surg. Endosc. 2004; 18:1384-88
50. Schulz S, Rodriguez ZZ, Mutters R, Menendez S, Bette M. Repetitive pnömoperitoneum with ozonized oxygen as a preventive in lethal polymicrobial sepsis in rats. Eur Surg Res. 2003;35:26-34.

51. Bentes de Souza AM, Rogers MS, Wang CC, Yuen PM, Ng PS. Comparison of peritoneal oxidative stress during laparoscopy and laparotomy. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 2003 ;10(1):65-74.
52. Zulfikaroğlu B, Koç M, Soran A, İsman FK. Evaluation of oxidative stress in laparoscopic cholecystectomy. *Surg Today.* 2002; 32: 869-874.
53. Seven R, Seven A, Erbil Y, Mercan S, Burcak G. Lipid peroxidation and antioxidant state after laparoendoscopic and open cholecystectomy. *Eur J Surg* 1999 ;165,871-874.
54. Maruszynski M, Pojda Z. Interleukin-6 (IL-6) levels in the monitoring of surgical trauma. *Surg Endosc* 1995;9:882-5.
55. Carozzi S, Caviglia M, Nasini G, Schelotto C, Santoni O. Peritoneal dialysis solution pH and Ca²⁺ concentration regulate peritoneal macrophages and mesothelial cell activation. *ASAIO J.* 1994; 40: 20-23.
56. Mahiout A, Brunkhorst R. Pyruvate anions neutralize peritoneal cytotoxicity. *Nephrol Dial Transplant.* 1995; 10:391-394.
57. Davies KJA. Oxidative stress: The paradox of aerobic life. *Biochem. Soc Symp,* 1995; 61: 1-31.
58. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* 1982; 47: 412-426.
59. Lecuru F, Agostini A, Camatte S. Impact of pneumoperitoneum on tumor growth. *Surg Endosc* 2002;16:1170-4.
60. Trokel MJ, Besler M, Treat MR. Preservation of immune response after laparoscopy. *Surg Endosc* 1994;8:1385-8

61. Stone J, Dyke L, Trizt P. Hemodynamic and hormonal changes during pnömoperitoneum and Trendelenburg positioning for operative gynecologic laparoendoscopic surgery. *Prim Care Update Ob Gyns.* 1998;5:155.
62. Neuhaus SJ, Ellis T, Jamiesson GG. Experimental study of the effect of intraperitoneal heparin on tumour implanttation following laparoscopy. *Br J Surg* 1999;86:400-404.
63. West M, Bellington j. Carbon dioxide inhibitis peritoneal macrophage cytokine production: a mechanism for the lack of inflammatory symptoms after laparoscopic surgery? *Surg Forum.* 1995; 46: 147-150.
64. Watson R, Redmond H, McCarthy J. Exposure of the peritoneal cavity to air regulates early inflammatory responses to surgery in a murine model. *Brit J Surg.* 1995; 82: 1060-1065.
65. Pullicino E, Carli F, Poole S. The relationship between the circulating concentrations of IL-6, TNF, and the acute phase response to elective surgery and accidental injury. 1990; 9: 231-238.
66. Are C, Talamani MA. Current Klowledge Regarding the Biology of Pnömoperitoneum-Based Surgery. *Problems in General Surgery* 2001;18:52-63.
67. Cruickshank A, Fraser W, Burns H. Response of serum IL-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Sci.*1990; 79: 161-165.
68. Vittimberga F, Foley D, Meyers W, Callery M. Laparoscopic surgery and the systemic immune response. *Ann. Surg.* 1998; 227: 326-334.

69. Bode J, Peters T, Schliess F. Activation of mitogen activated protein kinases and IL6 release in response to lipopolysaccharides in Kupffer cells is modulated by anisoosmolarity. *J Hepatol.* 1998; 28: 795-802.
70. West M, Hackman D, Baker J, Rodriguez J. Mechanism of decreased in vitro murine macrophage cytokine release after exposure to carbon dioxide: relevance to laparoscopic surgery. *Ann Surg.* 1997; 226: 179-190.
71. Hansborough JF, Bender EM. Altered helper and suppressor lymphocyte populations in surgical patients: A measure of postoperative immunosuppression. *Am J Surg.* 1984;148:303-7.
72. Ott DE, Rejch H, Love B. Reduction of laparoscopic-induced hypothermia, postoperative and recovery room length of stay by pre-conditioning gas with the Insuflow device: a prospective randomized controlled study. *J Laparoendoscopic Surg* 1994; 2:321-9.
73. Topley N, Liberek T, Davenport A, Li FK, Fear H. Activation of inflammation and leukocyte recruitment into the peritoneal cavity. *Kidney Int Suppl.* 1996; 56: 17-21.
74. Hell K, Hall J. Peritoneal defenses and peritoneum-associated lymphoid tissue. *Br J Surg* 1996; 83: 1031-1036.
75. Jacobs VR, Morrison JE, Mettler L. Measurement of CO₂ hypothermia during laparoscopy and pelviscopy: How cold it gets and how to prevent it. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 1999; 6:289-295.
76. Gray RI, Ott DE, Henderson AC. Severe local hypothermia from laparoscopic gas evaporative jet cooling: A mechanism to explain clinical observations. *J Surg Laparosc Surg.* 1999; 3: 171-177.

77. Ryan GB, Grobety J, Majno G. Mesothelial injury and recovery. *Am J Pathol.* 1973; 93-112.
78. Rapola JM, Virtamo J, Ripatti S. Randomised trial of α -tocopherol and β -carotene supplements on incidence of major coronary events in men with previous myocardial infarction. *Lancet.* 1997; 349: 1715-1720.
79. Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1999; 91:1194-1210.
80. Gonzalez PK, Zhuang J, Doctrow SR. Role of oxidant stress in the adult respiratory distress syndrome: Evaluation of a novel antioxidant strategy in a porcine model of endotoxine-induced acute lung injury. *Shock.* 1996; 6:23-26
81. Kehrer JP, Piper HM, H Sies. Xanthine oxidase is not responsible for reoxygenation injury in isolated-perfused rat heart. *Free radical Res Commun.* 1987; 3:69-78.
82. Nishino T. The conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase and the role of the enzyme in reperfusion injury. *J Biochem.* 1994; 116:1-6.
83. Liu S, Jiao X, Wang X and Zhang L. Interaction of electron leak and proton leak in respiratory chain of mitochondria-proton leak induced by superoxide from an electron leak pathway of univalent reduction of oxygen. *Sci China C Life Sci.* 1996; 39:168-178.
84. Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Botsios D, Tzartinoglou E, Farmakis H, Dadoukis J. Splanchnic ischaemia during laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 1996; 10: 324-326.

85. O'Malley C, Cunningham AJ. Physiologic changes during laparoscopy. *Anesthesiol Clin North Am.* 2001;19: 1- 19
86. Schafer M, Sagesser H, Reichen J, Krahenbuhl L. Alterations in hemodynamics and hepatic and splanchnic circulation during laparoscopy in rats. *Surg Endosc* 2001;15:1197-1201.
87. Chiu AW, Chang LS, Birkentt DH, Babayan RK. The impact of pneumoperitoneum and gasses laparoscopy on systemic and renal hemodynamics. *J Am Coll Surg.* 1995;181,397-406.
88. Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Papanotas K, Heliadis N. Gut ischaemia, oxidative stress and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. *World J Surg.* 1996;20,11-16.
89. Richeter S, Olinger A, Hildebrandt U, Menger MD. Loss of physiologic hepatic blood flow control 'hepatic arterial buffer response' during CO₂-pneumoperitoneum in the rat. *Anesth Analg.* 2001;93,872-877.
90. Samel ST, Neufank T, Mueller A, Lesies I, Becker H. Abdominal cavity chamber to study the impact of increased intra abdominal pressure on microcirculation of gut mucosa by using video microscopy in rats. *Crit Care Med.* 2002;30,1854-1858.
91. Davis JM, Gute DC, Jones S, Krsmanovic A, Korthuis RJ. Ischemic preconditioning prevents postischemic P-selectin expression in the rat small intestine. *Am J Physiol.* 1999;277: 2476-81.
92. Murry C, Jennings B, Reimer A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986; 74:1124-1136.

93. Clavien P-A, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg.* 2000;232,155-162.
94. Gonj JP, Tu B, Wang W, Peng Y, Li SB. Protective effect of nitric oxide induced by ischemic preconditioning on reperfusion injury of rat liver graft. *World J Gastroenterol.* 2004; 10:73-76.
95. Sola A, Hotter G, Prats N, Xaus C, Gelpi E. Modifikasyon of oxidative stress in response to intestinal preconditioning. *Transplantation.* 2000; 69:767-772.
96. Reinheckel T, Korn S, Mohring S, Agustin W, Halangk W. Adaptation of protein carbonyl detection to the requirements of proteome analysis demonstrated for hypoxia/reoxygenation in isolated rat liver mitochondria. *Arch Biochem Biophys.* 2000;376.59-65.
97. Ishida T, Yarimizu D, Korkhuis C. Mechanisms of ischemic preconditioning. *Shock* 1997;8:86-94
98. Akimitsu, T, Korkhuis J. Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte adhesion and emigration. *Am. J. Physiol.* 1996;40:2052-2059.
99. Gute, D, Ishida T, Korkhuis, R. Ischemic preconditioning (IPC) prevent post-ischemic leukocyte adhesion and emigration: role of protein kinase C (PKC) *Gastroenterology* 1996; 110: 127-132.
100. Downey J, Cohen K. Cellular mechanisms in ischemic preconditioning: the role of adenosine and protein kinase C. *Acad. Sci.* 1994; 723:82-98.

101. Heurteaux C, Lauritzen I, Widmann C, Lazdunski M. Essential role of adenosine, adenosine A₁ receptors, and ATP-sensitive K channel in cerebral ischemic preconditioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1995;92:4666-70.
102. Gute D, Ishida T, Korkhuis R. The beneficial effect of ischemic preconditioning are abolished by blockade of adenosine A₁ but not adenosine A₂ receptors *Microcirculation* 1996; 3:88-92
103. Mitchell, M. B., X. Meng, L. Ao, J. M. Brown, A. Preconditioning of isolated rat heart is mediated by protein kinase C. *Circ. Res.* 1995; 76: 73-81.
104. Ping P, Zhang J, Qiu Y, Tang S. Ischemic preconditioning induces selective translocation of protein kinase C isoforms epsilon and eta in the heart of conscious rabbits without subcellular redistribution of total protein kinase C activity. *Circ. Res.* 1997;81:404-414.
105. Gross G, Fryer M. Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K channels and myocardial preconditioning. *Circ. Res.* 1997;84:973-979.
106. Yang SP, Hao YB, Wu YX, Shen LH, Zhang Y. Ischemic preconditioning mediated by activation of K-ATP channels in rat small intestine. *Acta Pharmacologica Sinica* 1999;20:341-4.
107. Schultz JE, Rose E, Yao Z, Gross GJ. Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *American Journal of Physiology* 1995;268: 2157-61.
108. Miki T, Sato H, Cohen MV, Downey JM. Opioid receptor contributes to ischemic preconditioning through protein kinase C activation in rabbits. *Circulation* 1996;94: I-392-I-3.

109. Murry CE, Jennings RB and Reimer KA. Preconditioning with ischaemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* .1986;74:1124-1136.
110. Suzuki K, Sawa Y, Kaneda Y, Ichikawa H, Shirakura R. Over expressed heat shock protein 70 attenuates hypoxic injury in coronary endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol*. 1998;30:1129-1136.
111. Ferrari R, Agnoletti L, Comini L, Gaia G, Bachetti T, Cargnoni A. Oxidative stress during myocardial ischaemia and heart failure. 1998;19:2-11.
112. Cheng SX, Hu JX, Lou WJ. Protective effects of ischemic preconditioning on warm ischemic/reperfusion injury of rabbit lung. *Bull of Hunan Medical University* 1996;32:1081-7.
113. Guyton AC. Transport of oxygen and carbon dioxide in the blood and body fluids. In: Guyton AC, Hall JE. eds, *Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia: WB Saunders, 2000: 463-473.
114. Ogawa T, Mimura Y, Hiki N, Kanauchi H, Kaminishi M. Ischaemic preconditioning ameliorates functional disturbance and impaired renal perfusion in rat ischaemia-reperfused kidneys. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2000; 27:997-1001.
115. Islam FC, Mathie RT, Dinneen MD, Kiely EA, Peters AM, Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury in the rat kidney :the effect of preconditioning. *Br J Urol*. 1997;79:842-847

- 116.Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979; 95: 351-358.
- 117.Galili Y, Ben-Abraham R, Rabau M, Klausner J. Reduction of surgery-induced peritoneal adhesions by methylene blue. *Am. J. Surg.* 1998;175:30-32.
- 118.Ishizuka B, Kuribayashi Y, Kobayashi Y, Hamada N, Abe Y, Amemiya A. Stress response during laparoscopy with CO2 insufflation and with mechanical elevation of the abdominal wall. *J. Am Assoc Gynecol Laparos.*2000; 3:363-371.
- 119.Schob OM, Alien DC; Benzel E, Curet MJ. Adams MS, Baldwin NG, Largiader F. Zucker KA. A comparison of the pathophysiologic effects of carbon dioxide, nitrous oxide, and helium pneumoperitoneum on intracranial pressure. *Am J. Surg.*1996; 172: 248-253.
- 120.Stadtman ER, Berlett BS. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Chem. Res. Toxicol.* 1997; 485-494.
- 121.Eleftheriadis E, and Kotzampassi K. Influence of pneumoperitoneum on the mesenteric circulation.In Rosenthal RJ, Friedman RL, Philips EH, eds. *The pathophysiology of pneumoperitoneum.* New York: Springer 1998:49-61.
- 122.Redmond H, Watson W, Houghton T. Immune function in patients undergoing open versus laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc.* 1994;129:1240-1246
- 123.Jakimowicz J, Stultiens G, Smulders F. Laparoscopic insufflation of the abdomen reduces portal venous flow. *Surg Endosc.*1998;12:129-132.

124. Bioulac P, Kuiper J, Van Berkel T, Balabaud C. Lymphocyte and macrophage population in the liver. *Hepatogastroenterology* .1996; 43:4-14
125. Diebel LN, Saxe J; Dulchavsky SA. Effect of intra-abdominal pressure on abdominal wall blood flow. *Am. Surg.* 1992; 58:573-576.
126. Schiling MK, Redaelli C, Krahenbühl L, Signer C, Büchler M. Splanchnic microcirculatory changes during CO2 laparoscopy. *J Am Coll Surg* 1997; 184:378-382
127. Marzt J, Shimizu M. Influence of increased intra-abdominal pressure on the hepatoportal circulation. In: Rosental RJ, Friedman RL, Phillips EH, eds. *The pathophysiology of pneumoperitonum*. Springer, Berlin Heidelberg. New York: 1998:42-48.
128. Nauta RJ, Tsimoyiannis E, Uribe M, Walsh D, Miller D, Butherfield A. Oxygen-derived free radicals in hepatic ischemia and reperfusion injury in the rat. *Surg Gynecol Obstet.* 1990;171:120-125
129. Hemadeh O, Chilukuri S, Bonet V, Hussein S. Prevention of peritoneal adhesions by administration of sodium carboxymethyl cellulose and oral vitamin E. *Surgery.*1993; 114: 907-910.
130. Kirsch AJ, Hensle TW, Chang DT. Renal effects of CO2 insufflation :oliguria and acute renal dysfunction in a rat model. *Urology.*1994;43: 453-459.
131. Davies KA, Sevanian A, Muakkassah-Kelly SF, Hochstein P. Uric acid-iron ion complexes. *Biochem J.* 1986; 235: 747-754.

132. Neuhaus SJ, Ellis T, Rofe AM. Tumor implantation following laparoscopy using different insufflation gases. *Surg Endosc* 1998;12:1300-2.
133. Gutt CN, Kim ZG, Jacobi CA. Impact of laparoendoscopic colonic resection on tumor growth and spread in an experimental model. *Br J Surg* 1999;86:1180-4.
134. Gute D, Ishida, K. Inflammatory responses to ischaemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol. Cell. Biol.* 1998; 179:169-187,
135. Akçetin Z, Erdemli G, Bromme HJ. Experimental study showing a diminished cytosolic
136. Halvey A, Lin G, Gold-Deutsch R. Comparison of serum C-reactive protein concentrations for laparoscopic versus open cholecystectomy. *Surg Endosc* 1995;9:280-2.