



Gebe Koyunlarda Karbon Dioksit Pnömooperitonuna Anne ve Fetusun Sitokin Yanıtı

Ahmet TEKİN¹, Cüneyt EVRÜKE², Okan DEVECİ³

Mersin Devlet Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği¹ Mersin, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı², Mersin Devlet Hastanesi Anestezi Kliniği³, Mersin

Özet

Amaç: Karbon dioksit (CO₂) pnömooperitonunun gebe koyunlarda fetal asidoza neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, gebe koyunlarda CO₂ pnömooperitonunu takiben anne fetusdaki interleukin (IL)-6, IL-8 ve tümör nekrozis faktör alpha (TNF α) değerlerindeki değişiklikler araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, 100-140 günlük tekil gebeliği olan 8 koyun genel anestezi verilerek kullanıldı. Batına bir adet 5 mm trokar girişi yapılarak 60 dk 13-15 mmHg CO₂ pnömooperiton yapıldı. Pnömooperiton öncesi, hemen sonrası ve işlemden 24 saat sonra anne ve fetusda kan örnekleri alındı.

Bulgular: İnсуflasyon annede orta derecede fakat önemli derecede arterial hiperkapni (10.7 mmHg artış (P<0.001) ve asidoz (pH da 0.104 düşüş P=0.0005) meydana getirdi. Pnömooperiton hemen sonrası fetal Pco₂ ortalama 15.3 mmHg (P<0.001) ve fetal pH ortalama 0.11 ünite (P<0.001) arttı. Anne ve fetusdan alınan her üç grup kan örneğindeki IL-6, IL8 ve TNF_ seviyeleri arasında anlamlı bir fark belirlenemedi.

Sonuç: Gebe koyun ve fetusdaki IL-6, IL-8 ve TNF α değerlerinde CO₂ pnömooperitonu öncesine kıyasla pnömooperiton ve 24 saat sonra anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Bu sonuçlar asidozun gebe koyunlarda prematüre doğuma yol açabilecek olan IL-6, IL-8 ve TNF α seviyelerinin yükselmesine neden olmadığını göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Pnömooperiton, gebelik, fetal asidoz, sitokin

Yazışma Adresi:

Dr. Ahmet Tekin
İMC Hastanesi. İstiklal cad. No:196 MERSİN
Tel: 324 237 94 66
Fax: 324 238 00 99
GSM: 532 213 06 03
E-mail: atekin@imchospital.com

Summary

Maternal and Fetal Near-term Sheep Cytokine Responses to Carbon Dioxide Pneumoperitoneum

Background/Aims: It is known that carbon dioxide (CO₂) pneumoperitoneum induces fetal acidosis in pregnant ewes. Our aim was to determine changes of the levels of maternal and fetal cytokines IL-6, IL-8 and TNF α following CO₂ pneumoperitoneum in pregnant ewes.

Methods: Eight ewes with singleton pregnancies of 120–140 days gestation were anesthetized and intubated. The abdomen was insufflated with CO₂ at 13–15 mmHg pressure for 60 min. Before and immediately after the insufflation, and 24 hours following the CO₂ pneumoperitoneum, blood samples were taken from the ewes and fetuses.

Results: Insufflation produced modest but significant maternal arterial hypercapnia (an increase of 10.7 mmHg; P < 0.001) and acidosis (a decrease in mean pH of 0.1.04; P = 0.0005). Fetal PCO₂ was increased by 15,3 mmHg on average and pH was decreased by 0.11 unit on average immediately after desufflation (both P < 0.001). No significant difference was observed in the concentration of cytokine in the maternal or fetal blood samples.

Conclusion: Serum levels of IL-6, IL-8 and TNF α did not increased above baseline in pregnant ewes or fetuses during CO₂ pneumoperitoneum or 24 hours later. These results suggest that respiratory acidosis does not lead to the elevation of cytokines in pregnant ewes and fetuses, which may contribute to premature labor.

Key words: Pneumoperitoneum, pregnancy, fetal acidosis, cytokine

Giriş

Gebelikte CO₂ pnömoperitonunun anne ve fetusda respiratuvar asidoza yol açtığı bilinmektedir. Annede gelişen asidoz başlangıçta CO₂ absorpsiyonuna bağlı olarak gelişir ancak artmış intra-abdominal basınç ve uterus kütlesi asidozun daha da artmasına neden olur. Fetusda ise asidoz; plasentadaki pasif diffüzyon ve uterus üzerindeki basınç artması sonucu gelişen hemodinamik değişikliklere bağlı olmak üzere iki değişik mekanizma ile oluşmaktadır (1-3). Gebelik döneminde abortus ve prematüre doğum riskini artırması nedeniyle elektif batin ameliyatları yapılmamaktadır. Laparoskopik cerrahinin ilk yıllarında, pnömoperitonun ilk

trimesterde anomali, ikinci ve üçüncü trimesterde ise abortus ve prematüre doğum riskini artırabileceği düşüncesiyle gebelikte kesin olarak kontrendike olduğu bildirilmiştir (4). Laparoskopik yöntemin ilk yıllarının aksine günümüzde, gebelikte akut apandisit, akut kolesistit gibi acil durumlarda laparoskopik yöntemin başarıyla uygulandığına dair çok sayıda küçük seriler yayınlanmıştır(5-9). Ancak pnömoperiton sonucu oluşan fetal asidozun abortus ve prematüre doğum yönünden ekstra bir risk taşıyıp taşımadığı tam olarak bilinmemektedir.

Prematüre doğumlarda anne ve fetusda interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8 ve tumor necrosis factor alpha (TNF α) gibi proinflatuar sito-

kin seviyeleri yükselmektedir(10-13). Bu proinflatuvar sitokinler prostaglandin sentezini ve serbestleşmesini artırır. Prostaglandinler ise serviksi gevşetir, uterus kontraksiyonlarını stimule eder. Ayrıca korioamniotik membranı zayıflatarak rüptüre olmasına neden olur. Dolayısıyla prematüre doğum meydana gelir (11-14). Bu çalışmada gebe koyunlarda CO₂ pnömoperitonu takiben anne ve fetusda IL-6, IL8 ve TNF α gibi proinflatuvar sitokin seviyelerinde oluşabilecek değişiklikler araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Deney protokolünün Çukurova Üniversitesi Etik Kurulun'ca onaylanmasını takiben, 150 günlük gebelik süresinin 120-140 gün arası tekil gebeliği olan 8 koyun Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne nakledildi. Koyunlar deneyden 16 saat önce aç bırakıldı. Ancak son 8 saat öncesine kadar su verildi. Midazolam (1.0 mg/kg İM) ile sedasyonu takiben sodium thiopental (8.0 mg/kg I.V), anesteziye giriş yapılmasını takiben denekler entübe edildi. Entübasyonu takiben anestezi %1 halotan % 49 nitrous oxide ve % 50 oksijen ile tidal volüm 10 ml/kg ve ventilasyon sayısı 12-14/dk olarak idame ettirildi. Anesteziyi takiben anne ve fetusdan 5 ml kan örneği alındı. Kan örneklerinin alınmasını takiben açık teknikle 5 mm trokar periton boşluğuna yerleştirilerek 60 dk. süresince 13-15 mmHg CO₂ ile pnömoperiton yapıldı. Fetusda kan ultrasonografi eşliğinde sağ ventrikülde ponksiyon yapılarak elde edildi. Desüflasyonu takiben anne ve fetusdan kan örnekleri alındı. 24 saat sonra ketamin anestezisi ile anne ve fetusdan tekrar kan örnekleri alındı. Alınan tüm kan örnekleri EDTA-Monovetten ihtiva eden steril tüplere konularak 30-90 dk içinde santrifüje edilerek -

30°'de saklandı. Serumlarda IL-6, IL8 ve TNF α seviyeleri ticari ELİSA kitleri kullanılarak belirlendi. Ayrıca annede pH tayini için pnömoperiton öncesi ve pnömoperiton süresince 15 dk aralıklarla arterial kan örnekleri alındı.

Anne ve fetusdaki her üç grup sitokin değerlerindeki değişiklikler Friedman test ile değerlendirildi. P<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. Demografik karakteristiklerin kıyaslanmasında Mann-Whitney U-test kullanıldı. Deney süresince annedeki pH değerlerindeki değişikliklerin analizinde ANOVA testi kullanıldı. Anlamlı değerler Fisher testi ile teyid edildi.

Bulgular

Bu çalışmada 8 adet preterm koyun kullanıldı. Deneklerin tümü prosedürü çok iyi tolere etti. Deney sırasında ve sonrasında işlemle ilgili herhangi bir komplikasyon gelişmedi. Annede indüksiyon döneminde alınan arterial kanda basal Pco₂ 35(\pm 2) ve PH 7.43 \pm 0.2 bulundu. CO₂ pnömoperitonu annede orta derecede fakat önemli bir hiperkapni (ortalama 10.7 mmHg artış P < 0.001 vs. baseline) ve asidozis (ortalama pH da 0.1.04 düşüş; P = (0.0005) meydana gelmiştir. Pnömoperiton öncesi fetal bazal Pco₂ 45(\pm 3) mmHg, bazal pH 7.35(\pm 03) olarak belirlendi. Pnömoperiton sonrası fetal Pco₂ değerinde ortalama 15,3 mmHg artış pH değerinde ise ortalama. 0.11 ünite düşüş meydana geldi (herikisi için P < 0.001). Deney süresince annedeki arterial oksijen saturasyonu %98-100 olarak belirlendi. Pnömoperiton öncesi ortalama fetal arterial Po₂ 27(\pm 02) mmHg bulundu. Pnömoperiton sonrası bu değerde herhangi bir değişiklik oluşmadı (P = 0.35). Bu sonuçlar pnömoperiton süresince anne ve fetusda orta derecede bir hiperkapni ve asidozun geliştiğini göstermektedir. Pnömoperiton öncesi değerlere kı-

Tablo 1
Bazal, 60 dk pnömoperiton sonrası ve pnömoperitondan
24 h sonra maternal and fetal serum sitokin konsantrasyonları.

		Basal	60 min	24 hours	p*
TNF alfa	mother	4.56±0.92	4.35±1.07	4.56±1.29	0.4
	fetus	4.28±0.90	4.61±0.66	4.8±1.09	0.2
p**		0.354	0.402	0.508	
IL-6	mother	4.53±0.72	4.87±1.3	4.84±0.98	0.4
	fetus	4.42±1.04	4.12±0.25	4.35±0.79	0.4
p**		0.402	0.185	0.233	
IL-8	mother	5.43±0.63	5.53±1.27	5.81±0.99	0.4
	fetus	5.24±1.11	4.87±0.7	5.00±0.77	0.9
p**		0.566	0.015	0.077	

*Friedman test

**Man Whitney U test

yaşla pnömoperiton sonrası ve pnömoperitondan 24 h sonra annede TNF α , IL-6 ve IL-8 değerlerinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır (Tablo 1). Aynı şekilde fetusda da bazal değerlere kıyasla pnömoperiton süresince ve pnömoperitondan 24 h sonra TNF α , IL-6 ve IL-8 değerlerinde anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir (Tablo 1).

Tartışma

Koyun fetusunun fizyolojisi insan fetusuna benzer olup normal fizyolojik koşullarda respiratuar asidoz (pH ~7.35, Pco2 ~45 mmHg) mevcuttur. Fetal metabolizma tarafından ortaya çıkan CO₂, pasif diffüzyon ile plasenta tarafından elimine edilir. Diffüzyon hızı fetal kardiyak output ile annedeki Pco2 değeri ile orantılıdır. Normal fizyolojik koşullarda gebe koyunda (insanda) respiratuar alkaloz (pH ~7.43, Pco2 ~35 mmHg) mevcuttur. Maternal hiperventilasyon fetal asidozu minimize eder. Şayet maternal respiratuar asidoz gelişirse fetal asidoz dramatikleşir.

Gebe koyunlarda pnömoperitona karşı oluşan fizyolojik değişiklikler yapılan farklı çalışmalarda birbirine benzer niteliktedir (1-3,15). Annedeki en önemli değişiklik uterin kan akımında % 30 azalma ve orta derecede oluşan hiperkapni ve asidozdur. Bu değişiklikler intra-abdominal alanda CO₂ ile olan basınç artışına bağlıdır. Hiçbir çalışmada fetal oksijenizasyonunun azaldığına dair bulgu elde edilmemiştir. Bu çalışmalarda genel olarak CO₂ pnömoperitonun maternal ve fetal respiratuar asidoza neden olduğu vurgulanmıştır. Anne çok iyi ventile edilse bile fetusdaki değişiklikler yinede oluşmaktadır. Yüksek diffüzyon kapasitesi, plazmada yüksek çözünürlüğü ve yanma-patlama özelliğinin olmaması nedeniyle günümüzde CO₂ en çok tercih edilen gazdır. Bununla beraber CO₂ fizyolojik olarak inert değildir. Hastanın solunum ve dolaşım sisteminde aktiftir, Helyum ve argon gibi inert yapıdaki gazların fizyolojik etkileri de araştırılmıştır (16,17). Gebe koyunlarda helyum ile yapılan bir çalışmada (18); helyum pnömoperitonun CO₂ pnömoperi-

tonuna kıyasla daha hafif derecede maternal-fetal hiperkapni ve asidoza neden olduğu fakat fetal perfüzyonun aynı derecede azaldığı belirlenmiştir. Helyum ve Argon gibi inert gazların kullanımının anne ve fetus için CO₂ kıyasla daha az yan etkisi olmasına karşın suda erime kapasitelerinin düşük olması nedeniyle gaz emboli riskleri daha yüksektir (16,19).

IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α gibi proinflatuvar sitokinler miyadında ve prematüre doğumlarda önemli bir role sahiptir. Bu sitokinler doğum sürecinde prostaglandin biyosentezini stimüle ederek dolayısıyla myometrium kontraksiyonu ve serviksin dilatasyonuna neden olurlar (12,19). Bu 4 sitokininde miyadında veya prematüre doğum sürecinde amniotik sıvıda (21,22), anne serumunda (22,23), fetus serumunda (23) ve servikovaginal sekresyon mayiinde (24) yükseldiği görülmüştür. Prematüre doğum perinatal morbidite ve mortalitenin en önemli sebebidir ve doğumlarda % 5-10 oranında oluşur. Vakaların % 25-40'ında membranın prematür rüptürünün sebebi infeksiyondur (26). Choriodesidual alanın bakterial invazyonu IL-1 α , IL-6, IL-8 ve TNF α gibi sitokinlerin sentezi için desidua ve fetal membranları aktive eder. (11,12). Bu proinflatuvar sitokinler prostoglandin sentezini stimüle ederler. Prostaglandinler ise uterus kontraksiyonlarını artırma, serviksin gevşemesi ve chorioamniotik membran zayıflaması dolayısıyla rüptürü gibi fizyolojik etkileri nedeniyle doğumun başlamasında rol oynar (11-14).

Bu çalışmada CO₂ insüflasyonunun orta derecede fakat önemli bir maternal hiperkapni ve asidoza yol açtığı görüldü. Fetal arterial pH ve Pco₂ zaman olarak gecikmeksizin maternal pH ve Pco₂ 'yi takip eder (1-3,27). Gebe koyunlarda CO₂ ile yapılan önceki çalışmalarda (1-3,27), pnömoperiton süresince fetal

Pco₂ 'nin ortalama ~15 mmHg yükseldiği ve pnömoperiton sonrası 1-2 saat içinde normal bazal seviyeye indiği bildirilmiştir. Ayrıca yine aynı çalışmalarda fetal pH'ın ~0.11 ünite düştüğü ve pnömoperiton sonrası ancak 3-4 saat içinde normal bazal seviyeye yükseldiği ve fetal oksijen saturasyonunun da ~8 ünite düşüğü belirlenmiştir. Gebelikde kısa süreli fetal hiperkapni ve asidozun uzun süreli etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, 60 dk CO₂ pnömoperion sonrası pnömoperiton öncesine kıyasla maternal ve fetal IL-6, IL-8 ve TNF α seviyelerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Ayrıca yine pnömoperitondan 24 saat sonra maternal ve fetal IL-6, IL-8 ve TNF_ seviyelerinde bazala kıyasla anlamlı bir değişiklik tesbit edilmemiştir. Maternal ve fetal IL-6, IL-8 ve TNF α seviyelerinde birbirine benzer olduğu izlenmiştir. Gebe koyunlarda CO₂ insüflasyonunun asit-baz dengesi üzerindeki etkileri önceleri araştırılmıştır. Fakat ilk kez bu çalışmada maternal-fetal hiperkapni ve asidozun sitokin değerleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

İnsan plasentası ile in-vitro yapılan bir eksplant çalışmada (10) oksijenizasyonun azalmasının (hipoksemi) IL-1 α , IL-1 β ve TNF α gibi sitokinlerin sentezinin artmasına neden olduğu gözlenmiştir. Gebe koyunlarda yapılan çalışmalarda (1-3) maternal oksijenizasyondaki düşüşe rağmen fetal Po₂ 'da (25-30 mmHg) çok küçük düşüşler meydana geldiği bildirilmiştir. Fetal Po₂ 'da oluşan küçük düşüşler dokulara O₂ perfüzyonunu etkilemez. Çünkü fetal hemoglobin yapısal ve fonksiyonel olarak erişkin hemoglobininin farklıdır. Fetal hemoglobin hiperkapni ve hipoksemi durumunda oksijen dissosiasyon eğrisini sağa kaydırma kabiliyetine sahiptir (28). Dolayısıyla fetal asidoz ve hiperkapniye rağmen dokulara yeterli O₂ perfü-

yonu sağlanmış olur. Bizim aldığımız sonuçlarda bu teoriyi destekler niteliktedir. Diğer taraftan fetusun hipoksemi durumunda kardiyak output ve oksijen dağıtımını yeniden düzenlediği çok iyi bilinmektedir (29).

Laparoskopik cerrahi öncesi ve laparoskopinin ilk yıllarında gebelikte 2. trimesterin cerrahi girişim için en güvenli dönem olduğu tavsiye edilirdi (30). Teratojenite riskinin ilk trimesterde, düşük riskinde 3. trimesterde yüksek olabileceği düşünülüyordu. Düşük riskinin 2. trimesterde 3. trimestere oranla daha az olduğuna inanılırdı. Günümüzde laparoskopik girişimlerin her üç trimesterde de güvenli bir şekilde uygulanabileceğini bildiren çok sayıda araştırma mevcuttur (6-9). Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar gebeliğin son döneminde CO₂ ile yapılan laparoskopik girişimlerin düşük riskini arttırmadığını göstermiştir.

Normal koşullarda gebe koyunlarda (ve insanlarda) orta derecede fizyolojik respiratuvar alkaloz mevcuttur (pH ~7.43, PO₂ ~35 mmHg). Bu normalde insandakinin benzeri olarak koyun fetusundaki fizyolojik asidozu (pH ~7.35, Pco₂ ~35 mmHg) annenin hiper-ventilasyonla minimize etmesidir (20,21). CO₂ pnömoperitonunda CO₂ absorpsiyonuna bağlı respiratuvar asidoz gelişir. Annedeki CO₂ diffüzyon yoluyla fetal sirkülasyona geçerek fetusda da respiratuvar asidoza neden olur (1,21,22). Ancak gebe koyunlarda yapılan deneysel çalışmalarda (CO₂ pnömoperitonu) annede PO₂ anlamlı bir düşüş olmasına rağmen fetusda PO₂ da anlamlı değişiklik meydana gelmediği görülmüştür (1,21). Yaptığımız çalışmada pnömoperiton sonrası anne ve fetusda IL-6, IL-8 ve TNF α değerlerinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Respiratuvar asidoza rağmen anne ve fetusda O₂ perfüzyonunun yeterli olması proinflatuvar cytokin

seviyesinin normal seviyelerde kalmasına neden olmaktadır.

CO₂ pnömoperitonu gebe koyunlarda maternal ve fetal respiratuvar asidoza neden olmasına karşın fetusda oksijen perfüzyonunun azalmasına neden olmaz. Elde ettiğimiz sonuçlar orta derecede asidozun gebe koyunlarda prematüre doğuma yol açabilecek IL-6, IL-8 ve TNF α gibi sitokin seviyelerinin yükselmesine neden olmadığını göstermiştir. Gebelikte CO₂ ile yapılan laparoskopik girişimler prematüre doğum riskini arttırmaz.

Kaynaklar

1. Cruz AM, Southerland LC, Duke T, Townsend HG, Ferguson JG, Crone LA: İntraabdominal CO₂ insufflation in the pregnant ewe. Uterine blood flow, intraamniotic pressure, and cardiopulmonary effects. *Anesthesiology* 1996 Dec; 85: 1395-1402.
2. Curet MJ, Vogt DA, Schob O, Qualls C, Izquierdo LA, Zucker KA: Effects of CO₂ pneumoperitoneum in pregnant ewes. *J Surg Res* 1996; 63: 339-44.
3. Hunter JG, Swanstrom L, Thornburg K: CO₂ pneumoperitoneum induces fetal acidosis in a pregnant ewe model. *Surg Endosc* 1995; 9: 27-9.
4. Gadacz TR, Talamini MA: Traditional versus laparoscopic cholecystectomy. *Am J Surg* 1991; 161: 336-8.
5. Guidelines for laparoscopic surgery during laparoscopy. (Editorial). *Surg Endosc* 1998;12:189-90.
6. Augustin G, Majerovic M: Non-obstetrical acute abdomen during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007; 131: 4-12
7. Grahon G, Baxi C, Tharakon T: Laparoscopic cholecystectomy during pregnancy; a case series and review at the literature. *Obstet Gynecol Surv* 1988; 53: 566-74.,
8. Glavgon RE, Visser BC, Harris HW, Patti MG, Kilpatrick SJ, Mullvihill SJ: Changing management of gallstone disease during pregnancy. *Surg Endosc* 1998; 12; 241-6.
9. Reynolds DJ, Booth JV, de la Fuente S, Punnahitanda S, McMahon R, Hopkins MB, Eubanks WS: A review of laparoscopy for non-obstetric related surgery during pregnancy. *Current Surg* 2003; 60: 164-73.
10. Benyo FD, Miles TM, Conrad KP: Hypoxia stimulates cytokine production by villous explants from the

- human placenta. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82: 1582-8.
11. Fortunato SJ, Menon RP, Swan KF, Menon R: Inflammatory cytokine 1, 6 and 8 and tumour necrosis factor-alpha release from cultured human fetal membranes in response to endotoxic lipopolysaccharide mirrors amniotic fluid concentrations. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1855-62.
 12. Reisenberger K, Egarter C, Knofler M, Schiebel I, Groger H, Hirschi AM: Cytokine and prostaglandin production by amnion cells in response to the addition of different bacteria. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 178: 50-3.
 13. Maymon E, Romero R, Pacora P, Genvasi MT, Bianco K, Ghezzi F: Evidence for the participation of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase D) in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 914-20.
 14. Hebisch G, Grauaug AA, Neumaier-Wagner PM, Stallmach T, Huch A, Huch R: The relationship between cervical dilatation, interleukin-6 and interleukin-8 during term labor. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001; 80: 840-48.
 15. Luks FB, Deprest J, Marcas M, Vandenberghe K, Verrtommen JD, Lerut T, Brosens I: CO₂ pneumo-amnios causes acidosis in fetal lamb. *Fetal Diagn Ther* 1994; 9: 105-9.
 16. Neuhaus SJ, Gupta A, Watson DI. Helium and other alternative insufflation gases for laparoscopy: *Surg Endosc* 2001; 15: 553-60.
 17. Mc Mahon AJ, Baxter JN, Murray W, Imrie CW, Kenny G, Odwyer J: Helium pneumoperitoneum for laparoscopic cholecystectomy: ventilatory and blood gas changes. *Br J Surg* 1994;81:1033-6.
 18. Curet MJ, Weber DM, Sac A, Lopez J: Effects of helium pneumoperitoneum in pregnant ewes. *Surg Endosc* 2001; 15: 710-4.
 19. Wolf JS Jr, Carrier S, Stoller ML: Gas embolism: helium is more lethal than co₂. *J laparoendosc Surg* 1994; 4: 173-7.
 20. Coultrip IL, Lien JM, Kapernick P, Khoury A, Grossman JH: The value of amniotic fluid interleukin-6 determination in patients with preterm labor and intact membranes in the detection of microbial invasion of the amniotic cavity.
 21. Romero R, Mazor M, Sepulveda W, Avila C, Copeland D, Williams J: Tumour necrosis factor in preterm and term labor. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 1576-87.
 22. Opsjon SL, Wathen NC, Tingulstad S, Wiedswang G, Sundan A, Waage A: Tumor necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-6 in normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 397-404.
 23. Protonotariou E, Malamitsi-Puchner A, Giannaki G, Rizos D, Phocas I, Sarandakou A: Patterns of inflammatory cytokine serum concentrations during the perinatal period. *Early Hum Dev* 1999; 56: 31-8.
 24. Rizzo G, Copponni A, Rinaldo D, Tedeschi D, Arduini D, Romannini C: Interleukin-6 concentrations in servical secretions identify microbial invasion of the amniotic cavity in patients with preterm and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 812-7.
 25. Holmgren PA, Hogberg U: The very preterm infant - a population-based study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001; 80; 525-31.
 26. Magowan BA, Bain M, Juszczak E, McInney K: Neonatal mortality amongst Scottish preterm singleton births (1985-1994). *Br J Obstet Gynecol* 1998;105:10.
 27. Uemura K, McClaine RJ, Fuente SG, Manson RJ, Campbell KA, McClain DJ, White WD, Stamler JS, Eubanks JS, Reynolds JD: Maternal insufflation during the second trimester equivalent produces hypercapnia, acidosis, and prolonged hypoxia in fetal sheep. *Anesthesiology* 2004; 101: 1333-8.
 28. Wood WG, Bunch C: Fetal to adult hemopoietic cell transplantation: Is haemoglobin synthesis gestational age-dependent? *Prog Clin Biol Res* 1983; 134: 511-21.
 29. Sheldon RE, Peeters LLH, Jones MD, Makowski EI, Meschia G: Redistribution of cardiac output and oxygen delivery in the hypoxemic fetal lamb. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 151:71-8.
 30. Holthausen UH, Mettler L, Troldl H: Pregnancy: a contraindication? *World J Surg* 1999; 23: 856-62.