

KAN TRANSFÜZYONU YAPILAN KOBAYLARDA LEVAMİZOLÜN İNTESTİNAL
ANASTOMOZ ÜZERİNE ETKİLERİTHE EFFECTS OF LEVAMİZOL ON INTESTINAL ANASTOMOSIS
IN TRANSFUSED GUINEADr.Yavuz S. İLHAN Dr.Mustafa ERDOĞAN Dr.Ziya ÇETİNKAYA Dr.Nurullah BÜLBÜLLER
Dr.Osman DOĞRU Dr.M.Ali AKKUŞ

ÖZET: Bu deneysel çalışmada bir antihelmintik ve immünostimülant olan levamizolün normal ve kan transfüzyonu yapılmış kobaylarda anastomoz iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmak amacıyla, her grupta 14 kobay (Guinea Pig) olmak üzere 4 grup halinde toplam 56 kobay ve kan transfüzyonu için de 10 adet kobay kullanıldı. Tüm kobaylarda intestinal anastomoz uygulandı. Grup A: Kontrol grubu, Grup B: Kan transfüzyonu yapılan grup, Grup C: Batıniçi levamizol uygulanan grup, Grup D: Transfüzyon ve levamizol uygulanan grup. Deneysel gruplarında mortalite hızı kaydedildikten sonra deneklerin yarısına postoperatif 3. günde ve diğer yarısına 7. günde olmak üzere relaparotomi uygulandı. İntraabdominal sepsis bulguları, anastomoz dirençleri, patlama basınçları değerlendirildi. Gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırma "Varyans Analiz" testi ile yapıldı. Transfüzyon grubunda sepsis bulguları arttı ve patlama basıncı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Kan transfüzyonundan sonra intraabdominal verilen levamizolün intraabdominal sepsisi ve anastomoz absesini azaltarak mortaliteyi düşürdüğü, ayrıca anastomoz iyileşmesi ve anastomoz direncini anlamlı olarak ($p<0.01$) arttırdığı gözlemlendi. Levamizol uygulanan gruplarda histopatolojik iyileşme sadece transfüzyon uygulanan gruba göre daha iyi bulundu. Levamizolün transfüzyon olmadan verildiğinde ise kontrol grubu ile eşdeğerde mortalite ve morbiditeye sahip olduğu bulundu.

Anahtar Kelimeler: İntestinal Anastomoz, Levamizol, Transfüzyon.

SUMMARY: In this experimental study, the effects of an antihelmintic and immunostimulating agent (drug) levamisole on anastomosis recovery in blood transfused and normal Guinea pigs were investigated. A total of 56 animals were divided into 4 groups of each consisted of 14 subjects. An additional 10 Guinea pigs were employed for blood transfusion. Intestinal anastomosis were performed on all subjects. Following postoperative treatments were exercised: Group A:None (control group), Group B: Blood transfusion, Group C: Intraabdominal levamisole, Group D: Transfusion+ Levamisole after recording the mortality rate of each group, relaparotomy was applied on 50% the subjects on the 3rd postoperative day, and on the remaining 50% of the subjects on the 7th postoperative day. Findings on intraabdominal sepsis, resistance of anastomosis, explosion pressure were evaluated. Statistical comparison of groups were accomplished by the variance analysis. In the transfusion group an increase in the sepsis findings were determined and the blowing pressure was found to be meaningfully lower than the control group. Intraabdominal levamisole application following the blood transfusion was observed to reduce the mortality by diminishing the intraabdominal sepsis and anastomosis abscess, and to increase the anastomosis pressure and recovery ($p<0.01$). The histopathological recovery in levamisole administered groups were found to be better than the group received only blood transfusion. Levamisole application without blood transfusion resulted in equal mortality and morbidity to that of control group.

Key Words: Intestinal Anastomosis, Levamisole, Transfusion.

Cerrahide ciddi travma ve operasyonlar sonucu kan kayıplarında kan transfüzyonu gerekebilir. Preoperatif kan transfüzyonlarının postoperatif septik komplikasyonları

arttırdığı ve immün sistemi baskıladığı bildirilmektedir (1). Kan transfüzyonunun zorunlu olarak yapıldığı hallerde immün sistemin baskılanmasının giderilmesi postoperatif komplikasyonların önlenmesi açısından önemli olabilir.

Çalışmamızda; immün stimülant etkisi bilinen Levamisolün kan transfüzyonu yapılan deneklerde intestinal anastomoz iyileşmesi üzerine olumlu etki gösterip göstermediğini araştırdık.

F.Ü. Tıp Fak. Genel Cerrahi Kliniği
Yazışma Adresi: Dr. Dr.Yavuz S. İLHAN
F.Ü. Tıp Fak. Genel Cerrahi Kliniği, Elazığ

MATERYEL-METOD

Her gruba 14'er adet 350-450 gr ağırlığında kobay (Guinea pig) alınarak 4 grup halinde çalışıldı. Ayrıca kan transfüzyonu için 10 adet İngiliz türü kobay (Guinea pig) donör olarak kullanıldı. Kobaylar arasında cins ayrımı yapılmadı.

Deney Grupları:

A Grubu: Kontrol (İleoktomi ve uç-uça anastomoz)

B Grubu: Kan transfüzyonu yapılan grup

C Grubu: Levamizol uygulanan grup.

D Grubu: Kan transfüzyonu ve levamizol uygulanan grup.

Deney öncesi 8 saat aç bırakılan tüm deneklere anestezi için 100mg/kg Ketamin HCL ve 4mg/kg Xylazine %2 intramusküler (i.m) olarak karıştırılıp aynı enjektörle yapıldı ve yaklaşık 30 dakikalık genel anestezi süresi sağlandı. Operasyonda idame dozu kullanılmadı. Operasyondan 2 dakika önce karın traşları yapıldı ve karın %10 Povidon iodine ile temizlendi. Yaklaşık 3-4cm.lik orta hat insizyon ile karına girildi. Eksplozasyonda terminal ileum bulunarak 6 cm proksimalden tam kat kesildi ve 2 cm' lik kısım rezekle edildi. Proksimal ve distal ileum 6/0 Prolen ile tek kat, tek tek, uç-uca anastomoz edildi. Anastomozda kaçak ve geçişin olup olmadığı proksimal uçtan, distal uca gaz ve barsak içeriği geçirilerek gözlemlendi. İngiliz türü kobaylardan heparinle yıkanmış enjektörle kardiyak ponksiyon yapılarak 3cc kan alındı. Bu kan B ve D grubundaki kobaylara operasyon bittikten ve cross-match kontrolü yapıldıktan sonra, vena kavadan aynı miktarda verildi. Ayrıca C ve D grubundaki kobaylara 25 mg/kg Levamizol intraperitoneal olarak, operasyon bitiminde uygulandı. Tüm kobaylarda karın 3/0 ipekle tek tek kapatıldı. Postoperatif 24. saatte oral alıma geçildi. Her gruptaki kobayların yarısına postoperatif 3. gün, diğer yarısına da 7. gün olmak üzere aynı şekilde genel anestezi verildikten sonra relaparotomi yapıldı. Karın boşluğu peritonit, anastomotik abse mevcudiyeti ve anastomoz iyileşmesi yönünden değerlendirildi. İleal anastomoz, etraf yapışıklıklardan ayrılarak serbestleştirildi ve 5 cm'lik barsak segmenti, anastomozu içerecek şekilde rezekle edildi. Daha sonra kobaylar yüksek doz Xylazin ile öldürüldü.

İntraabdominal sepsis bulguları değerlendirildikten sonra denekler sakrifiye edilmeden önce anastomozun 5cm proksimal ucuna hava pompası, anastomozun 5cm distal ucuna ise pnömometre bağlanarak ipekle kaçak olmayacak şekilde sıkılıp anastomoz ortada bırakıldı. Anastomoz suyun içine sokularak patlama basıncını ölçmek için pnömometreye hava verildi. Hangi basınçta ve hangi kısımdan patladığı çıkan hava kabarcığına göre tesbit edildi. Sonuçlar mmHg (Mercury monometresi) cinsinden bu-

lunup Varyans Analiz testi ile istatistiki analizi yapıp değerlendirildi.

Piyenin ortasındaki anastomoz kısımları histopatolojik incelemeler için çıkarıldı. Alınan materyeller %10 formol ile tespit edilerek parafin bloklara konuldu. Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Tablo-I'de belirlenen histopatolojik değerlendirmeye göre "kör" histopatolojik incelemeye alındı.

Fibröz doku artışı ve anastomoz bölgesine (PNL, fibroblastlar, v.s.) infiltrasyonu puanlanarak değerlendirildi.

1-Puan	Az
2-Puan	Orta
3-Puan	İyi

Her grup için yapılan puanlamanın ortalaması ve standart sapması hesaplandı. Anastomoz bölgesinde nekroz, abse ve ülserasyon var veya yok şeklinde değerlendirildi.

BULGULAR

Tüm gruplar mortalite, intra-abdominal sepsis ve abse, anastomotik patlama basıncı bakımından değerlendirilip histopatolojik incelemeleri yapıldı.

Mortalite oranı:

Transfüzyon yapılan grupta mortalite postoperatif 3. günde 2 (%14), postoperatif 7. günde 1 (%7) olmak üzere toplam 3 (%21) bulundu. Ölen deneklerde anastomotik abse veya generalize peritonit gibi intraabdominal sepsis bulguları gözlemlendi. Levamizol uygulanan grupta 14 kobaydan 1 tanesi postoperatif 2. günde öldü. Levamizol grubunda mortalite 1 (%7) bulundu. Transfüzyon / Levamizol uygulanan grupta ve kontrol grubunda mortalite gözlenmedi.

İntraabdominal sepsis ve abse:

Kontrol grubundaki kobayların hiç birinde intraabdominal sepsis ve abse bulguları gözlenmedi. Transfüzyon grubunda postoperatif intraabdominal infeksiyon oranının diğer guruplara göre arttığı görüldü. Bu grupta postoperatif 3. günde anastomotik abse %60, 7. günde %33 bulundu. Transfüzyon grubunda generalize peritonit postoperatif 3. günde %40, 7. günde %20, subfrenik abse %15 bulundu (Tablo-I).

Transfüzyon + Levamizol uygulanan grupta deneklerin tümünde postoperatif 3. ve 7. günde anastomotik abse ve generalize peritonit gibi intraabdominal sepsis bulguları gözlenmedi. Bu grupta, transfüzyon grubuna göre intraabdominal sepsis yönünden anlamlı olarak azalmış bulundu ($p<0.001$). Levamizol uygulanan grupta ise sadece bir kobayda postoperatif 2. günde anastomotik abse gözlemlendi (%14).

Anastomotik patlama basıncı:

Transfüzyon grubunda patlama basıncı ve anastomotik kuvvet belirgin olarak düşük bulundu. Operasyon sonrası

	Postop 3. gün		Postop 7. gün		Toplam
	n	Anastomotik abse	n	Anastomotik abse	
A grubu	7	0	7	0	0/14
B Grubu	6	1	7	0	1/13
C Grubu	7	0	7	0	0/14
D Grubu	5	3	6	2	5/11

	Patlama Basınçları		Değerlendirilmesi (PB) (mmHg)	
	Postop 3. gün		Postop 7. gün	
	n	PB mmHg	n	PB mmHg
A grubu	7	81 \pm 11	7	299 \pm 42
B Grubu	6	81 \pm 12	7	293 \pm 37
C Grubu	7	75 \pm 15	7	294 \pm 13
D Grubu	5	32 \pm 6	6	224 \pm 8
P	<0.0001		<0.0001	

3. günde transfüzyon grubunda patlama basıncının kontrol grubuna göre %68 az olduğu gözlemlendi (Tablo-II). Transfüzyon + Levamizol uygulanan grupta, patlama basıncı transfüzyon grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Operasyon sonrası 3. günde tüm gruplarda anastomoz patlamaları sütür hattında oluştu. Transfüzyon grubunda postop 7. günde patlamaların %50'si sütür hattında oluşurken transfüzyon + levamizol grubunda patlamaların tümü sütür hattı dışında görüldü.

Levamizol uygulanan grupta patlama basınçları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Bu iki grupta operasyon sonrası 7. günde tüm patlamalar sütür hattı dışında oluştu.

Patolojik değerlendirme:

Transfüzyon + Levamizol grubunda fibröz doku artışının transfüzyon grubuna göre daha fazla olduğu gözlemlendi (Tablo-III). Transfüzyon/Levamizol grubundaki his-

topatolojik bulgular kontrol grubu ile aynı düzeyde bulundu.

Transfüzyon grubunda anastomozun bölgesinde mikro abse ve nekroz yaygın olarak gözlemlendi.

TARTIŞMA

Kan transfüzyonlarının immün sisteme baskılayıcı etkisi üzerinde ilk defa böbrek transplantasyonundan önce uygulanan kan transfüzyonlarında saptanmıştır. Alogreft rejeksiyon reaksiyonlarının şiddeti ve sayısında azalma görülmüştür (2,3). Crohn hastalığı nüksünde de önemli derecede azalma saptanması bu gözlemi desteklemiştir (4).

Deneyde mortalite ve morbidite transfüzyon uygulanan koyalardan diğer gruplara göre anlamlı fark bulundu. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. Bu sonuçlar bize literatür bilgilerine paralel olarak kan transfüzyonunun mortalite, sepsis ve intraabdominal abseyi artırdığını

Tablo-III: Çalışma gruplarının histopatolojik değerlendirilmesi. (Ort. puan±SD)					
Çalışma Grupları	Fibröz Doku Artışı	Abse	Nekroz	Hücre infiltrasyonu	Ülserasyon
Postop 3. Gün					
A grubu	2.82±0.2	--	--	2.88±0.15	--
B grubu	1.1±0.18	+	+	1.4±0.65	+
C grubu	2.71±0.5	--	+	2.62±0.44	--
D grubu	2.92±0.25	--	--	2.92±0.26	--
Postop 7. gün					
A grubu	2.8±0.1	--	--	2.85±0.25	--
B grubu	1.2±0.18	+	+	1.13±0.54	+
C grubu	2.76±0.22	--	+	2.67±0.4	--
D Grubu	2.83±0.21	--	--	2.88±0.23	--

gösterdi (5,6,7,8).

Kan transfüzyonları hücresef immüniteyi hümorale immüniteye göre daha çok etkiler. Bu işlemi yardımcı/baskılayıcı T hücre oranını, doğal öldürücü hücre (NKC) aktivitesini, makrofajların etkisini ve lenfosit blastogenezini azaltarak yapar (9,10). Aktive olmuş lenfositlerden salınan lenfokinler in vitro olarak fibroblastların çoğalmasını, migrasyonunu ve kollajen sentezini düzenlediği gösterilmiştir (11). T lenfositlerinin azalmasının cilt yaralarının iyileşmesini bozduğu bildirilmiştir (12). Bu çalışmalar immün süpresyonu ne şekilde oluşturduğu konusunda belirgin ip uçlarıdır.

Bu çalışmada kan transfüzyonun yol açtığı bu olumsuzluklara karşılık Levamizol kullanıldı. Levamizol T süpresör hücreleri engelleyerek immünmodölatör görev yapan antihelmintik bir ilaçtır. Levamizolun gecikmiş tipte hipersensitiviteyi, mitojenik cevabı ve in vitro lenfosit proliferasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (13). T lenfositlerini, B lenfositlerine göre daha fazla stimüle ederek hücresef immünite üzerine daha etkilidir (14).

Allojenik kan transfüzyonun anastomoz iyileşmesini bozduğu ayrıca anastomotik abse, fasial abse, ve peritonit riskini artırdığı hayvan deneyleri ile gösterilmiştir (5,6,7,8). İntestinal anastomozlarda cerrahi teknik hatalar kaçak riskini arttırmakla beraber kollajen sentezinin bozulması veya çeşitli nedenlerle bloke edilmesi daha önemlidir. Gerilim kuvveti ve ayrılma direncinin artmasında en önemli faktör, yaranın ihtiva ettiği kollajen miktarından ziyade mevcut kollajenin intramoleküler ve intermoleküler kovalan bağlarının artmasıdır. Literatürde in-

testinal anastomozlarda patlama basıncı ölçümünün hidrokspirolin seviyesi ve gerilme direncine göre daha iyi bir gösterge olduğu savunulmuştur (15). Bu nedenle bu çalışmada anastomozda patlama basınçları ölçüldü.

Anastomozlarda postoperatif ilk 3 gün anastomoz güvenliğini sütürler sağlamaktadır. Bu nedenle anastomoz patlamaları sütür hattında oluştu. Daha sonra kollajen sentezi başlar ve anastomoz hattında kollajen miktarı artar. 7. günde kollajen gelişimi ve anastomoz güçlenme sürecinin büyük kısmı tamamlanır (16). Oluşan kollajen yara dokusunu çevreleyen erişkin kollajene daha sonra bağlanır (17). Böylece sütür hattı ile sağlam doku arasında zayıf bölge oluşur. Böylece anastomoz patlamaları sütür hattı dışında oluşur.

Sonuç olarak; kan transfüzyonu kobaylarda anastomoz iyileşmesine negatif etki yaparak anastomotik abse ve intraabdominal sepsis oranını artırdı ve anastomotik direnci azalttı. Sadece levamizol verilen kobaylarda; transfüzyon yapılan kobaylara göre anastomoz abse ve intraabdominal sepsis azalırken anastomoz direncini arttırdı. Levamizol; kobaylarda kan transfüzyonunun anastomoz iyileşmesi üzerine negatif etkilerini azaltarak mortalite ve morbititeyi anlamlı şekilde düşürdü. Cerrahi operasyonlarda gereksiz kanama oluşturmaktan kaçınmak ve lüzumsuz kan transfüzyonlarına yol açmamak önemlidir. Ancak transfüzyonun kaçınılmaz olduğu operasyonlarda immünstimülan Levamizolün intraperitoneal kullanılması konusunda klinik çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Tartter PI, Quintero S, Barron DM: Perioperative blood transfusions associated with infectious complications after colorectal cancer operations. *Am J Surg* 479-482, 1986.
2. Opelz G, Senger DPS, Mickey MR, et al. Effect of blood transfusion on subsequent kidney transplant *Proc* 5: 253-259, 1973.
3. George CD, Morello PJ: Immunological effects of blood transfusion upon renal transplantation, tumor operation and bacterial infections. *Am J Surg* 152: 329-337, 1986.
4. Peters WR, Fry RD, Fleshman JW, et al.: Multiple blood transfusions reduce the recurrence rate of Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 32: 749-753, 1989.
5. Tadros T, Wobbes T, Hendriks TH: Blood transfusion impairs the healing of experimental intestinal anastomoses. *Ann Surg* 215: 276-281, 1992.
6. Waymack JP, Warden GD, Alexander JW, et al: Effect of blood transfusion and anesthesia on resistance to bacterial peritonitis. *J Surg Res* 42: 528-535, 1987.
7. Waymack JP, Yurt RW: The effect of blood transfusions on immune function: V. The effect on the inflammatory response to bacterial infections. *J Surg Res* 48: 147-153, 1990.
8. Jensen LS, Andersen AJ, Christiansen PM, et al: Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg* 79: 513-516, 1992.
9. Schot JDL, Schuurman RKB: Blood transfusion supresses cutaneous cell mediated immunity. *Clin. Exp Immunol.* 65:336-344, 1986.
10. Kaplan J, Sarnaik S, Gitlin J, et. al: Diminished helper/suppressor lymphocyte rations and natural killer activity in recipients of repeated blood transfusions. *Blood* 64: 308-310, 1984.
11. Barbul A: Immune regulation of wound healing. In faiste DR, Ninneman J eds immune consequences of trauma, shock, sepsis. Berlin, Springer-Verlag. 339-349, 1989.
12. Peterson JM, Barbul A, Breslin RJ, et al. Significance of T lymphocytes in wound healing. *Surgery* 102: 300-302, 1987.
13. Stites DP, Terr AI. Basic and clinical immunology middle east edition. Sewenth edition lebanon p.784, 1991.
14. Gatenby PA, et al. Autoantibodies in cancer patients given corynebacterium parvum levamisole immunothepary. *Lancet* 1: 1081, 1980.
15. Kim CS, Buchmiller TL, et al. The effect of anabolic steroids on ameliorating the adverse effects of chronic corticosteroids on intestinal anastomotic healing in rabbits. *Surgery* 176: 73-79, 1993.
16. Jonsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Breaking strength of small intestinal anastomoses. *Am J Surg.* 145: 800-803, 1983.
17. Sayek İ.: Temel cerrahi: Yara iyileşmesi. Cilt I Ankara, Güneş kitapevi. s:266-277, 1996.