

CO₂ Pnömooperitonunun Azoksümetan ile İndüklenmiş İn Vivo Kolon Kanseri Gelişimine Etkisi (Deneyisel Çalışma)

Tolga BALKAN*, Ediz ALTINLI*, Metin ERTEM**, Tayfun KARAHASANOĞLU***

ÖZET

Amaç: Laparoskopik cerrahinin günümüzde yaygın kullanımı sonucu CO₂ pnömooperitonunun tümör gelişimi üzerine olan etkisi de araştırma konusu haline gelmiştir. Bu deneyisel çalışmada CO₂ pnömooperitonunun azoksümetan ile indüklenmiş in vivo kolon kanseri gelişimi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Yöntem: Çalışmada 40 Wistar-Albino erkek sıçan 3 gruba ayrılmıştır. Tüm sıçanlara 6 hafta boyunca haftada bir kez olmak üzere 15 mg/kg dozunda subkutan azoksümetan enjeksiyonu yapılmış, 1. gruba (n=15) 6. haftada 8 mmHg basınçlı 20 dk süreli CO₂ pnömooperitemu uygulanmıştır. 2. gruba (n=15) 6. haftada ksifoidden pubise uzanan orta hat laparotomisi yapılmış ve 20 dk. beklenerek kapatılmıştır. 3. gruba (n=10) herhangi bir girişimde bulunulmamıştır. Doz başlangıcından 30 hafta sonra tüm gruplar sakrifiye edilerek sol kolon ve sigmoid kolon materyalleri hızla patolojik olarak incelenmiştir.

Bulgular: Grup 1 de Astler-Coller sınıflamasına göre sıçanların 6'sı (%50) A, 4'ü (%33.3) B1, 2'si (%16.7) B2 olarak tespit edildi. Grup 2 de Astler-Coller sınıflamasına göre tümör saptanan sıçanların 4'ü (%36.3) A, 5'i (%45.6) B1, 2'si (%18.1) B2 olarak tespit edildi. Kontrol grubunda Astler-Coller sınıflamasına göre sıçanların 5'i (%71) A, 2'si (%29) B1 olarak tespit edildi. Sıçanlardaki kolon kanser gelişiminin 1. ve 2. grupta kontrol grubuna göre daha ileri evrede olduğu görülmüştür. Pnömooperiton ve laparotomi grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Sonuç: Elde edilen sonuçlara göre, CO₂ pnömooperitonunun gelişmekte olan serozayı aşmamış in vivo kolon kanseri gelişimine etkisi laparotomiden farklı değildir.

Anahtar Sözcükler: Azoksümetan, pnömooperiton, kolon kanseri, laparoskopi

SUMMARY

The effect of CO₂ pneumoperitoneum on the development of primary colon carcinoma

Objective: With the extensive use of laparoscopic surgery, its effects on tumor development have become a subject of interest. In this experimental study, the effect of CO₂ pneumoperitoneum on the development of colon cancer has been investigated histopathologically.

Methods: In the study 40 Wistar Albino male rats were divided into 3 groups. All rats were given subcutaneous azoxymethane injection with a dose of 15 mg/kg per week for 6 weeks. To the first group (n=15) CO₂ pneumoperitoneum was performed for 20 minutes with a pressure of 8mmHg on the 6th week. To the second group (n=15), midline laparotomy from xiphoid to pubis was performed and closed after 20 minutes. To the third group (n=10) no surgical procedure was performed. 30 weeks after the injection of the first dose all groups were sacrificed and samples from left colon and sigmoid were rapidly examined histopathologically.

Results: According to Astler-Coller classification in the first group 6 rats had (50%) A, 4 had (33.3%) B1 and 2 had (16.7%) B2 type. In group 2 Astler-Coller classification revealed 4 (36.3%) A, 5 (45.6%) B1 and 2 (18.1%) B2. Astler-Coller classification revealed 5 (71%) A and 2 (29%) B1 in the control group. The development of colon cancer in rats was observed to be in a more advanced stage in first and second groups compared to controls. No statistically significant difference was found between pneumoperitoneum and laparotomy group.

Conclusion: According to the results obtained it can be concluded that the effect of CO₂ pneumoperitoneum on the development of in vivo colon cancers not different from laparotomy.

Key Words: Azoxymethane, pneumoperitoneum, colon cancer, laparoscopy

GİRİŞ

Laparoskopik cerrahinin tümör ameliyatlarında kullanıma girmesiyle trokar metastazları, batin içerisinde tümör yayılımı gibi problemler ortaya çıkmıştır. Bu konularda yapılan çalışmalar

(*) Uzm Dr., İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı

(**) Prof. Dr., İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı

(***) Doç. Dr., İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı

halen sürmekte olup, özellikle tümör yayılımı ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda in vitro tümör modelleri kullanılmıştır (1, 2, 3). Laparoskopik cerrahide kullanılan CO2 gazının immün sisteme yapmış olduğu etkiler bir takım prospektif ve deneysel çalışmalarla ortaya konulmaya çalışılmıştır. Mevcut tümörün serozal yüzeylerde batın içerisine yayılımı ile ilgili çok sayıda deneysel çalışma bulunmaktadır. Fakat CO2 pnömoperitonunun primer tümörün büyümesine olan etkisi çok yeni bir konu olup henüz bu konuda bir fikir birliği oluşmamıştır

Bu deneysel çalışmada CO2 pnömoperitonunun, sıçanlarda oluşturulan primer kolon kanseri gelişimine etkisi histopatolojik olarak araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilmiş, 40 Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanların ağırlıkları 100-150 gr. arasında olup ortalama ağırlık 120 gramdı. Girişim öncesi ve sonrası sıçanlar gruplarına göre ayrı ayrı kafeslerde muhafaza edildi. Tüm sıçanlar standart yem ve su ile beslendi.

Tümör Modeli. Kolon kanseri oluşumunda Azoxymetane" ampul (500 mg azoksümetan, Sigma) kullanıldı. Sıçanların anestezisi için Ketalar" flakon (10 ml, 50 mg/ml ketamin hidroklorür, Parke Davis) ve Rhompun" flakon (2% ksilazin hidroklorür, Bayer) kullanıldı. Azoksümetan subkutan, ketamin hidroklorür ve ksilazin hidroklorür intramuskuler olarak enjekte edildi. Deneysel çalışma sonunda sakrifiye edilen sıçanların histopatolojik incelemeleri İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji A.B.D.' de yapıldı. Pnömooperiton oluşturmada kullanılan CO2 tüpü ve insufflatör İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ameliyathanesinden temin edildi.

Çalışmada kullanılan 40 sıçan 3 gruba ayrıldı (Grup 1-n:15, Grup 2-n:15, Grup 3-n:10 sıçan olmak üzere). Tüm gruplara, izotonik ile sulandırılmış azoksümetan 15 mg/kg dozunda sıçanla-

rın ense bölgesinden subkutan olarak 6 hafta boyunca, haftada bir kez enjekte edildi. 1. grup sıçanlara enjeksiyon işleminin bitiminden 6 hafta sonra, kanül (Braun No:16) ile batına girilip 8 mmHg basınçlı 20 dk. süreli CO2 pnömoperitonu oluşturuldu 20 dakika sonunda kanül çekildi

2. gruba enjeksiyon işleminin bitiminden 6 hafta sonra ksifoidden pubise uzanan laparotomi işlemi uygulandı. 20 dakika sonra 3/0 ipek süturler ile kontinü olarak batın ön duvarı fasyası kapatıldı. Yine 3/0 ipek süturlarla cilt separe olarak kapatıldı. Deney başlangıcından 30 hafta sonra 1. grup ve 2. gruptaki denekler derin eter anestezisiyle sakrifiye edildi. Sol kolon, mezosu ile birlikte geniş olarak eksize edildi. Eksize edilen materyaller histopatolojik inceleme amacıyla formol solüsyonuna konuldu. 3. gruba enjeksiyon işleminden sonra girişimde bulunulmadı. Kontrol grubu olarak değerlendirildi. Deneyin 30. haftasında diğer gruplarla birlikte sakrifiye edilerek, sol kolonları mezosu ile birlikte geniş olarak eksize edilip formol solüsyonuna konul-

Tablo 1. Deney süresince yapılan girişimlerin gruplara göre gösterilmesi

	Grup I n=15	Grup II n=15	Grup III n=10
1-6 hafta	15mg/kg azoksümetan enjeksiyonu	15 mg/kg azoksümetan enjeksiyonu	15 mg/kg azoksümetan enjeksiyonu
12. hafta	20 dk. süreli pnömoperiton	Laparotomi primer sütur	-
30. hafta	Sakrifiye edildi	Sakrifiye edildi	Sakrifiye edildi

du (Tablo 1). Tüm materyaller patoloji laboratuvarında parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan bloklardan alınan kesitlere hematoksilin-eozin ile boyama yapılarak tümör hücrelerinin varlığı araştırıldı.

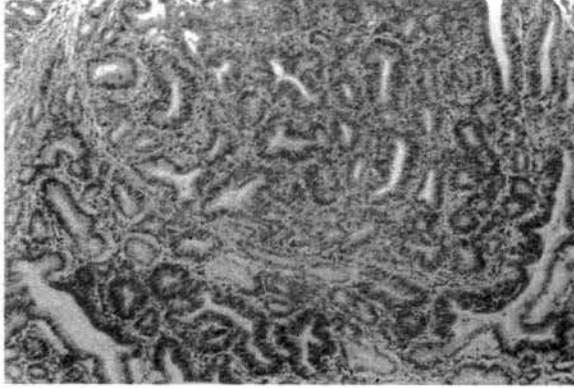
İstatistiksel İnceleme. Elde edilen veriler, ki-kare istatistiksel inceleme testi kullanılarak değerlendirildi. $p>0.05$ üzerindeki değerler istatistiksel olarak anlamsız kabul edildi.

SONUÇLAR

Pneumoperiton grubu (I. Grup): 15 sıçandan 12'sinde patolojik inceleme sonucu tümör saptandı. 2'sinde iskemik kolit saptandı. Sıçanlardan 1'i deney süresinde exitus oldu. Tümör saptanan 12 sıçandan 6'sında (%50) intramukozal iyi diferansiye adenokarsinom , 4'ünde (%33.3)

tubuler adenom zemininde adenokarsinom (musküler invazyon var), 2'si (%16.7) submukozal adenokarsinom olarak tespit edildi (serozal invazyon mevcut) (resim 1) . Astler-Coller sınıflamasına göre sıçanların 6'sı (%50) A, 4'ü (%33.3) B1, 2'si (%16.7) B2 olarak tespit edildi.

Laparotomi grubu (II. Grup): 15 sıçandan 11'inde patolojik inceleme sonucu tümör gelişimi saptandı. 3 sıçan deney sırasında exitus oldu. 1 sıçanda iskemik kolit gözledi. Bunlardan 4'ü

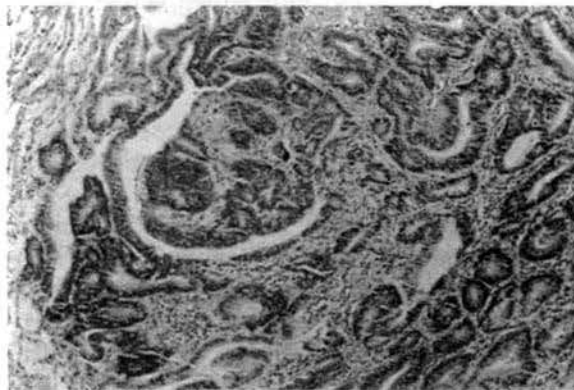


Resim 1. Submukozada iyi diferansiye adenokarsinom (HE x 100) GRUP I

Tablo 2. Grupların Astler-Coller sınıflamasına göre ayrılması

	CO2 pnömoperitonu	Laparotomi	Kontrol
A	6 (%50)	4 (%36.3)	5 (%71)
B1	4 (%33.3)	5 (%45.6)	2 (%29)
B2	2 (%16.7)	2 (%18.1)	f

(%36.3) intramukozal iyi diferansiye adenokarsinom, 5'i (%45.6) submukozal adenokarsinom (musküler invazyon var) (Resim 2), 2'si (%18.1) iyi diferansiye serozal tutulum gösteren adenokarsinom idi. Astler Coller sınıflamasına göre



Resim 2. İnamukozal iyi diferansiye adenokarsinom (HE x 100) GRUP II

tümör saptanan sıçanların 4'ü (%36.3) A, 5'i (%45.6) B1, 2'si (%18.1) B2 olarak tespit edildi.

Kontrol grubu (III. Grup): 10 sıçandan 7'sinde patolojik inceleme sonucu tümör saptandı. 2'sinde lokal mukozal infarkt saptandı. Sıçanlardan 1'i deney süresinde exitus oldu. Tümör saptanan 7 sıçandan patolojik inceleme sonucu 5'i (%71) intramukozal adenokarsinom, 2'si (%29) tubuler adenom zemininde gelişen adenokarsinom(musküler invazyon var) olarak tespit edildi. Astler-Coller sınıflamasına göre sıçanların 5'i (%71) A, 2'si (%29) B1 olarak tespit edildi (Tablo 2).

İstatistiksel olarak ki kare testi ile gruplardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).Azoksimetan ile indüklenmiş in vivo kolon kanseri modelinde, CO2 pnömoperitonunun tümör gelişimi üzerine etkisi histopatolojik olarak incelendiğinde laparotomiden farklı olmadığı görüldü.

TARTIŞMA

Bessler (1), Jacobi (2), Allendorf (3), Bouvy (4) ve arkadaşları yapmış oldukları deneysel çalışmalarında CO2 pnömoperitonunun tümör yayılımı üzerine etkilerini

araştırmışlardır. Farklı modeller kullansalar da hepsi in vitro olarak elde edilmiş tümör hücrelerini kullanmışlardır. Sonuçlara bakıldığında, laparotomi uygulanan gruplarda tümör gelişimi ve yayılımının CO2 pnömoperitoneumu uygulanan gruba göre daha ileri olduğu görülmektedir. Jones ve arkadaşları (5) ise yapmış olduğu çalışmada CO2 pnömoperitoneumunun batin içine enjekte edilen tümör hücrelerini laparotomiye göre daha fazla yaydığını bulmuştur.Takiguchi ve arkadaşları(6) da hücrese düzeyde yapmış olduğu çalışmasında CO2 nömo-peritoneumunun tümörlü hücreler üzerine toksik etkisi olduğu sonucuna varmıştır.Jacobi ve arkadaşlarıda (2) ,CO2 ile helyum gazlarını tümör gelişimine etkileri açısından karşılaştırmıştır.Hem invivo hemde invitro olarak yapmış olduğu çalışmasında CO2 nin helyuma göre tümör gelişimini daha fazla arttırdığı sonucuna varmıştır.Watson ve arkadaşları (7) da gazsız la-

paroskopinin trokar metastazlarını azalttığını ileri sürmüşlerdir. Fakat yinede CO2 pneumoperitoneumu diğer gazlara veya gazsız laparoskopiyeye göre daha avantajlı bulunmuştur (8).

Çalışmamızda insanda gelişen kolon kanserine bugün için en yakın model olan azoksimetan ile indüklenmiş primer kolon kanseri modeli kullandık(9). Bu modelin dezavantajı tümör oluşumu için 14-16 hafta kadar latent dönemin gerekli olmasıdır(10). Diğer çalışmalar incelendiğinde deneyler en geç 8-10 haftada sonlandırılmaktadır.

Klinik olarak düşünüldüğünde tümör hücrelerinin batin içerisine enjeksiyonuyla yapılan deneysel modellerde ileri evre tümör oluşumu söz konusu olmaktadır(11,12). İleri evre tümörlerde gerek laparotomili gerekse de laparoskopik olarak kuratif bir operasyon yapılamayacağından, bu tür deneysel modellerin klinik olarak anlamlılığı çok fazla değildir. Bu yüzden çalışmamızda serozayı aşmamış primer kolon tümörü modeli kullandık (RESİM 1, 2).

1999 yılında Pauwels ve arkadaşlarının (13) yapmış oldukları çalışmada CO2 pnömooperitonunun sıçanlarda gelişmekte olan solid kolon karsinomuna etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada rektal yoldan sıçanlara insan kolon kanseri hücrelerini vermiştir. Hemen sonrasında tüm sıçanlara laparotomi yapıp sol kolonlarını rezeke ederek uç uca anastomoz yapmıştır. İki hafta sonra sıçanları üç gruba ayırarak birinci gruba laparotomi, ikinci gruba CO2 pnömooperitonu uygulamış, üçüncü grubu da kontrol grubu yapmıştır. Bu işlemin iki hafta sonrasında sıçanlar sakrifiye edilmiş, total tümör ağırlığı ve hacmi açısından grupları karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak üç grup arasında fark bulamamıştır.

Bizim çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında CO2 pnömooperitonu uygulanan ve laparotomi yapılan gruplar arasında tümör gelişimi açısından histopatolojik olarak bir fark görülmemektedir. Kontrol grubuna bakıldığında Astler-Coller sınıflamasına göre sıçanların beşinde (%71) A, ikisinde (%29) B1 tümör gelişimi görülmektedir. Kontrol grubunda hiç B2 tümör oluşmamıştır. Pnömooperiton ve laparotomi gruplarında (%16) ise ikişer sıçanda B2 tümör olduğu görülmüştür. Aradaki bu fark, uygulanan travmanın (pnömooperiton, laparotomi) tümör gelişimi üzerine olan etkisini düşündürmektedir (14). Tümör gelişimi esnasında uygulanacak girişimin (laparotomi, pnömooperiton) travmatize

edici bir etkisi vardır (14). Bunun tümör gelişimine etkisi uygulandığı süreye, konağın immünesine, tümörün biyolojik davranışına göre farklılık gösterir (15,16,17). Bu yüzden CO2 pnömooperitonunun tümör gelişimi üzerine etkisi ile ilgili yapılacak deneysel çalışmalarda farklı tümör modellerine ve büyük deney hayvanı modellerine gereksinim vardır. Moleküler ve immünolojik düzeyde yapılacak araştırmalar da bu konuda oluşacak fikir birliğine daha fazla netlik kazandıracaktır.

Serozayı aşmamış kolon tümörlerinde uygulanacak pneumoperiton tümör yayılımı açısından risk oluşturmamaktadır. Aynı zamanda tanısı konulmamış mukozal veya submukozal tümöral lezyonu olan hastalara, herhangi bir nedenden dolayı uygulanacak pneumoperiton bu tümöral lezyonun gelişimini etkilemediği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Bessler M, Allendorf JDF, Cinao JD, et al. Permissive tumor growth after laparotomy versus laparoscopy is associated with altered TNF levels. *Surgical Forum* 1994; 45:486-487
2. Jacobi CA, Ordemann J, Bohm B, et al. Increased tumor growth after laparotomy and laparoscopy with air versus CO2. *Surg Endoscopy* 1996;10:551
3. Allendorf JDF, Bessler M, Kayton ML, et al. Increased tumor establishment and growth after laparotomy vs laparoscopy on amurine model. *Arch Surg* 1995; 130: 649-653
4. Bouvy ND, Marquet RL, Lambert SWJ, et al. Laparoscopic bowel resection in the rat, earlier restoration of IGF-1 and less tumor growth. *Surg, Endosc.* 1996; 10: 567
5. Jones DB, Guo L, Reinhard MK, et al. Impact of pneumoperitoneum on trocar site implantation of colon cancer in a hamster model. *Dis, Colon Rectum* 1995; 38:1182-1188
6. Takiguchi, Matsuura N, Hamada Y, et al. Influence of CO2 Pneumoperitoneum During Laparoscopic Surgery on Cancer Cell Growth. *Surg Endosc* 2000 Jan; 14(1):41
7. Watson D I, Mathew G, Ellis T, et al. Gasless Laparoscopy May Reduce the Risk of Port-Site Metastases Following Laparoscopic Tumor Surgery. *Arch Surg* 1997; 132:166-9
8. Scott CEH, Conner. *The Sages Manual Fundamentals of Laparoscopy and GI Endoscopy.* Pneumoperitoneum 1999; 5:37-42

9. Banarjee A, et al. Experimental Models of Colorectal Cancer. Dis Colon Rectum 1998;41(4):490-505
10. Barkla DH, Tuttan PJM. Surface Changes in the Descending Colon of Rats Treated with Dimethylhydrazine. Cancer Research 1977;37:262-271
11. Canis M, Batcharishuili R, Wattiez A, et al. Tumor Growth and Dissemination After Laparotomy and CO2 Pneumoperitoneum: A Rat Ovarian Cancer Model. Obstetric & Gynecology 1998;92:104-8
12. Paik PS, Misawa T, Chiang M, et al. Abdominal Incision Tumor Implantation Following Pneumoperitoneum Laparoscopic Procedure vs. Standard Open Incision in a Syngeneic Rat Model. Dis Colon Rectum 1998; 41:419-22
13. Pauwels M, Lauwers P, Hendriks J, et al. The effect of CO2 Pneumoperitoneum on the Growth of a Solid Colon Carcinoma in Rats. Surg Endosc 1999; 13(10):998-1000

14. Mathew G, Watson DI, Ellis TS, et al. The Role of Peritoneal Immunity and the Tumour-Bearing State on the Development of Wound and Peritoneal Metastases After Laparoscopy. Aust N Z J Surg 1999 Jan;69.
15. Chekan EG, Nataraj C, Clary E, M. et al. Intraperitoneal Immunity and Pneumoperitoneum. Surg Endosc 1999 Nov;13(11):1135-8S.
16. Whelan RL, Allerdorf JD, Futt NC, et al. General Oncologic Effects of the Laparoscopic Surgical Approach. 1997 Frankfurt International Meeting of Animal Laparoscopic Researchers. Surg Endosc 1998 Aug;12(8):1092-5
17. Vittemberga FJ, Foley DP, Meyers WC, et al. Laparoscopic Surgery and the Systemic Immune Response. Annals of Surgery 1998; 227:326-34.

Alındığı Tarih: 08.05.2001

Yazışma adresi: Dr. Ediz ALTINLI
İstanbul Evleri Çayır Sk. Gökçe 1 Apt. D. 44
34590 Bahçelievler, İstanbul

8TH WORLD CONGRESS

March 13 – 16, 2002
New York!


SAGES

Hosted by
SAGES

of endoscopic surgery
scientific session & postgraduate courses