

DeneySEL Olarak Ratlarda Oluşturulan, İntraperitoneal Hipertermik Stres Azaltılmasında Midazolam Etkisi

EFFECT OF MIDEZOLAM ON ATTENUATION OF INTRAPERITONEAL HYPERTHERMIC STRESS IN RATS

Dr.Serdar ERKASAP, Dr.Birgöl BÜYÜKKIDAN*, Dr.Ersin ATEŞ,
Dr.Ercüment PAŞAOĞLU, Dr.Belkıs TANRIVERDİ*, Dr.Bekir YAŞAR

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi ABD,
(*) Anesteziyoloji ve Reanimasyon ABD, ESKİŞEHİR

ÖZET

Amaç: İntraperitoneal hipertermik kemoperfüzyon tedavi protokolünde kullanılan, 41-43 C'lik hiperterminin, deneysel olarak ratlar üzerinde oluşturacağı stres yanıtı ve bu yanıtta midazolamın etkinliği araştırıldı.

Durum Değerlendirmesi: Bu tedavi protokolünü uygulayan merkezlerde, hastalarda istenmeyen bir etki olarak, stres yanıtın hipertermi ile arttığı bildirilmektedir.

Yöntem: Çalışmada, 18 adet Wistar türü rat üç gruba ayrıldı. Tüm gruplarda, 0.saat kanları alınarak laparotomi yapıldı ve iki adet üst batına, iki adet alt batına olmak üzere toplam dört tane nelaton dren yerleştirilerek karın kapatıldı. Grup 1 (Kontrol): Normotermik (36°C), 100ml Ringer Laktat üst batına yerleştirilen drenden verilerek diğer drenlerden dışarıya alındı. Grup 2: Aynı yöntem kullanılarak 43°C'ye kadar ısıtılan Ringer Laktat ile perfüzyon yapıldı. Grup 3: Hipertermik perfüzyondan hemen önce 5mg/kg midazolam IM olarak uygulandı. Bir saatlik perfüzyon sonunda tüm deneklerden, insülin ve kortizol tefkikleri için kan alındı.

Çıkarımlar: 0.saat ve deney sonunda çalışılan kortizol değerlerinde her üç grupta da anlamlı artış bulundu. İnsülin değerlerinde ise sadece Grup 2 ve 3'de anlamlı düşüklük bulundu. Birinci saat sonundaki kortizol değerleri, gruplar arasında karşılaştırıldığında ise Grup 2'deki yüksekliğin anlamlı olduğu görüldü. Deney sonu insülin değerlerinde ise her üç grubun farklı olduğu ve en fazla insülin baskılamasının Grup 2'de olduğu tespit edildi.

Sonuç: Benzodiazepin grubu olan midazolamın hipertermi ile oluşturulan stres yanıtı azaltıcı etkisinin bulunduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: Hipertermik stres, midazolam, intraperitoneal hipertermik kemoperfüzyon, deneysel rat modeli

SUMMARY

In this study, the effect of 41-43°C hyperthermy used for intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion treatment protocol on stress response and the effect of midazolam to this response was investigated. For this study, 18 wistar rats were divided into three groups. All groups were performed laparotomy following the sampling of 0th hour blood and four nelaton drains were inserted into the abdominal cavity namely two into the upper and two into the lower half before the closure of the abdomen. Group 2 (Control): 100ml of normothermic lactated Ringer's solution was administered through the upper drain and taken back through the lower ones.

Group 2: By using the same procedure lactated Ringer that was heated up to 43°C was perfused.

Group 3: 5mg/kg midazolam was injected i.m. route just before the hyperthermic perfusion.

After one hour perfusion blood samples were taken from all subjects for insulin and cortisol levels.

Cortisol levels were different at the 0th and end of the experiment significantly for all three groups. As the insulin levels were compared, it was found to be suppressed significantly in the groups 2 and 3. For the 1st hour cortisol levels; levels of the group 2 was higher significantly. For the end of the experiment insulin levels it was seen that all three groups were different and most significant insulin suppression was in group 1.

As a result midazolam a benzodiazepine has a reducing effect on stress response arised due to hyperthermia.

Keywords: Intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion, stress response, midazolam, rat

Intraperitoneal kemoterapi, peritoneal boşluk-taki mevcut bir tümörün bölgesel yayılımını ve nüksünü önlemek için ortaya atılmış bir kemoterapi protokolüdür (1,2). Eğer bu protokole intraperitoneal hipertermik perfüzyon (İPHP) modeli eklenirse hiperterminin ve kemoterapotik ilacın sinejistik bir etki gösterdiği ve tümorosidal etkinin artırılabilirdiği bildirilmektedir (3,4).

Sugarbaker ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, memelilerin 42.5°C'lik bir intraperitoneal hipertermiyi tolere edebildiklerini belirtmişlerdir. Günümüzdeki klinik uygulamalarda ise belirtilen bu maksimum değerin daha altında hipertermik kemoperfüzyon ısısı uygulanmaktadır. Örneğin, intraperitoneal alanın 4/-5-41.5°C, sistemik ısının ise 38°C'nin altında tutulması hedeflenmektedir (5).

İPHP tedavi protokolünü uygulayan klinikler tedavi yöntemine bağlı çeşitli komplikasyonlar bildirmişlerdir. Bu tedaviye bağlı olarak en sık görülen yan etkiler; hematolojik, hepatik, pulmoner, gastrointestinal ve kardiyak toksisite, yara iyileşmesinde gecikme sayılmaktadır (6). İPHP'na bağlı meydana gelen istenmeyen yan etkilerin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak sorumlu tutulan ilk neden, verilen tümorosidal ajan, ikincisi operasyonun genişliği ve üçüncüsü ise oluşturulan hipertermik ortamdır. Hipertermi tek başına veya bir cerrahi girişimle birlikte, oluşacak stres yanıtı artırdığı da bilinmektedir (5,7).

Oluşan stres yanıtın azaltılmasının, komplikasyonların daha az görülmesinde etkili olacağı düşünülerek, stres yanıtı baskılandığı bildirilen midazolamın etkisini, bu tedavi protokolünde araştırmak amacıyla ratlar üzerinde bir deneysel çalışma planlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında (TICAM), Üniversite

Etik Kurulunun izni alınarak yapılan çalışmada ağırlıkları 150-200g. olan 18 adet Wistar türü rat kullanıldı. Tüm ratların ısıları, merkezi vücut ısısını en iyi yansıtan özefageal ısı probu ile ölçüldü ve bazal ısı olarak kaydedildi. Gün içi hormonal varyasyonlar gözönüne alınarak deneyler günün aynı saatlerinde yapıldı. Ratlara 0.2mg/kg i.m. ketamin yapılarak anestetize edildi. Femoral ven kateterize edilerek kontrol kan örnekleri alındı. Laparotomi yapılarak üst ve alt batına ikişer adet nelaton dren (No:8 ve 10 yerleştirildi ve karın 3/0 ipek ile çift kat kapatıldı. Daha sonra ratlar 3 ayrı gruba ayrıldı:

Grup 1 (Kontrol)(n=6): Normotermik (36°C) 100ml. Ringer Laktat bir saat süre ile üst batına yerleştirilen nelatondan infüze edildi ve alt batına yerleştirilen drenenden dışarıya alındı. Bir saatlik sürenin sonunda drenler çekildi ve tekrar kan örneği alındı.

Grup 2 (n=6): Karın içerisine verilen 100ml Ringer Laktat 43°C'ye kadar ısıtılan bir termostat içerisinden geçirildi ve verilen ısısının 43°C olması sağlanarak infüzyon yapıldı.

Grup 3(n=6): 43°C'ye kadar ısıtılmış olan sıvının karın içerisine infüzyona başlamadan önce 5mg/kg Midazolam (Dormicum, Roech) IM olarak yapıldı ve tüm işlemler aynı şekilde tekrarlandı. Grup 2 ve Grup 3'de infüzyon sırasında ratlardan ölçülen özefageal ısının $37 \pm 0.8^\circ\text{C}$ olması sağlandı.

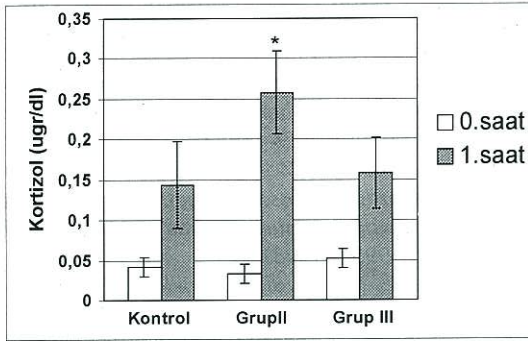
Elde edilen veriler ortalama \pm standart hata olarak verildi. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 6.0 programı kullanıldı. 0. ve 1.saat hormon düzeyleri değişikliklerinde Student's t-testi (paired-t testi), 1.saat sonu gruplar arası istatistiksel karşılaştırma ise Varyans Analizi yöntemiyle yapıldı. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

SONUÇLAR

Her 3 grupta, ratların ağırlıkları arasında fark-

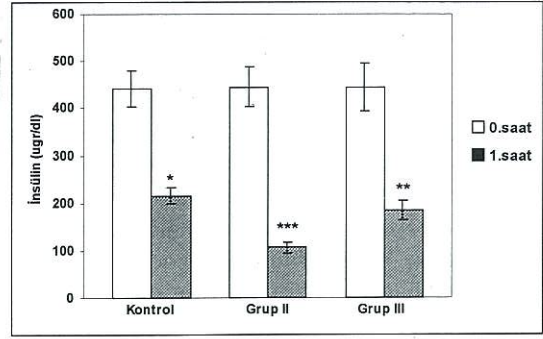
lılık yoktu (250 ± 40 gr.). Tüm ratların ortalama bazal ısıları $36.0 \pm 0.3^\circ\text{C}$ idi.

Grup 1'de serum kortizol değeri normotermik infüzyon sonunda kontrol değerine göre anlamlı değişiklik göstermiştir ($t=4.50$, $p<0.01$). Grup 2'de kontrol değeri 0.033 ± 0.012 iken hipertermik infüzyon sonunda serum kortizol değeri 0.258 ± 0.051 değerine ulaşmıştır ve bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir ($t=-11.27$, $p<0.001$). Grup 3'de ise 0.053 ± 0.012 olan kontrol serum kortizol değeri, infüzyon sonunda 0.158 ± 0.044 değerine ulaşmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($t=-5.95$, $p<0.01$). Her üç grubun 1. saat sonundaki kortizol değerleri kendi aralarında karşılaştırıldığında, Grup 2 kortizol değeri diğer gruplardan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($F_{(2,15)}=0.0021$, $p<0.01$)(Grafik 1).



Grafik 1: 0. ve 1. saatlerde ortalama kan kortizol değerlerinin grafiksel gösterimi ve istatistiksel karşılaştırılması

İnsülin serum konsantrasyonları Grup 1'de infüzyon sonrasında anlamlı değişiklik göstermemiştir ($t= -0.94$, $p>0.05$). Grup 2'de kontrol değeri 444.83 ± 41.59 olan insülin seviyesi hipertermik infüzyon sonrasında 106.00 ± 11.17 değerine düşmüş ve bu azalma anlamlı bulunmuştur ($t=21.18$, $p<0.001$). Grup 3'de ise 443.83 ± 50.53 olan insülin kontrol değeri, infüzyon sonrasında 183.00 ± 20.12 değerine düşmüştür bu azalma istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($t=9.53$, $p<0.001$). Her üç grubun 1. saat sonundaki serum insülin değerleri kendi aralarında karşılaştırıldığında, Grup 2 ortalama insülin değerinin kontrol ve Grup 3'den, Grup 3'ün de kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü ($F_{(2,15)}=72.99$, $p<0.001$)(Grafik 2).



Grafik 2: 0. ve 1. saatlerde serum insülin ortalama değerlerinin grafiksel gösterimi ve istatistiksel karşılaştırılması

TARTIŞMA

Organizma, herhangi bir stresle karşılaştığında homeostasisi korumak için nöroendokrin bir yanıt oluşturur. Akut stres oluşturabilen durumlar arasında iske mi, hipoksi, hipotermi ve hipertermi gibi etkenler yer almaktadır (8). Stres durumlarında endokrin ve metabolik yanıt çoğunlukla ACTH, GH, prolaktin, kortizol, insülin, glukagon, glukoz, yağ asitleri, adrenalin, noradrenalin ölçümleri ile değerlendirilmektedir (9).

Hipertermi ile uyarılmış stres yanıt üzerine yapılmış deneysel çalışmalarda 1.5°C vücut ısısı artırılarak stres hormonlarında anlamlı artış sağlanabileceği bildirilmektedir (10,11). Bu stres yanıtın azaltılması, özellikle hipertermik intraperitoneal kemoperfüzyon tedavi yöntemi seçilen hastalarda, meydana gelebilecek komplikasyonları azaltması yönünde faydalı olabilecektir.

Bizim çalışmamızda, intraperitoneal normotermik perfüzyon yapılan kontrol grubu, hipertermik perfüzyon ve midazolam + hipertermik perfüzyon yapılan gruplarda serum kortizol değerleri anlamlı artış göstermiştir. Deneyin başlangıcında gruplar arasında ortalama kortizol değerleri açısından fark yoktu. Ancak birinci saat sonundaki kortizol değerleri karşılaştırıldığında ise Grup 2 ortalama kortizol değerinin diğer gruplardan istatistiksel olarak yüksek olduğu görüldü.

Oral benzodiazepinlerin kullanıldığı bir insan çalışmasında, kortizol konsantrasyonlarının suprese edilebildiği gösterilmiştir (12). GABA agonistleri kullanılarak yapılan bir başka çalışmada, hipotalamik kortikotropin releasing faktör sekresyonunu inhibe edilerek ACTH ve

kortizol salınımının azaltılabileceği gösterilmiştir (13). Benzodiazepinler ile ratlarda yapılan bir çalışmada adrenal kortekste periferik benzodiazepin reseptörleri gösterilemediği için adrenal korteks üzerine direkt etkilerinin olup olmadığı ayırtedilememiştir (14). Nöroendokrin fonksiyonlar üzerine benzodiazepinlerin bu etkisinin mekanizması ise, hipotalamusta ya da diğer beyin bölgelerinde benzodiazepinlerin GABA'ya bağlı benzodiazepin reseptörlerini etkilemelerine bağlanmışlardır (14).

Çalışmamızda, stres altındaki ratlarda insülin yanıtı incelendiğinde ise kontrol grubundaki insülin baskılanmasının anlamlı olmadığı, ancak Grup 2 ve Grup 3'de bu baskılanmanın anlamlı düzeyde olduğu görüldü. Birinci saat sonundaki serum ortalama insülin değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında ise her üç grubun ortalama değerlerinin farklı olduğu, ancak en fazla insülin baskılanmasının Grup 2'de olduğu görüldü.

Anestezi ve cerrahi stresin, insülin yanıtı baskıladığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (15,16). Cerrahi sırasında insülinin baskılanması veya azalması sempatik ve adrenal aktivasyonun artmasıyla açıklanmaktadır (15).

İnsülin sekresyonu üzerine GABA agonistlerinin etkisi ile ilgili değişik sonuçlar mevcuttur (17). Köpeklerde yapılan bir çalışmada GABA'nın insülin sekresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (17). Desborough ve arkadaşları anestezi induksiyonunda midazolam kullandıklarında serum insülin konsantrasyonunda kontrole göre %50 oranında azalma saptamışlar ve bu azalmanın, pankreastan insülin salınımı üzerine direkt olarak midazolamın etkisi ile oluşabileceğini ileri sürmüşlerdir (18).

İnsanlarda yapılan bir çalışmada, midazolamın sadece yüksek dozlarda verildiğinde cerrahiye karşı oluşan endokrin yanıtı baskıladığı ve pituitar sekresyon üzerine stimülasyon ve inhibisyon oluşturarak miks bir etkiye sahip olduğu ve bu şekilde pankreatik fonksiyon üzerine inhibitör etki oluştuğu ileri sürülmüştür (19).

Yapılan bu deneysel çalışmada ise, hipertermik stres modelinde; midazolam, stres yanıtı, kortizol ve insülin seviyelerine düzeyinde azaltmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Sugarbaker PH, Cunliffe W, Belliveau J et al: Rational for early postoperative intraperitoneal chemotherapy as a surgical adjuvant for gastrointestinal

- malignancy. *Reg Cancer Treat* 1989;1:66-79.
2. Markman M, Howell SB, Lucas WE, Pfeifle CE, Green MR: combination intraperitoneal chemotherapy with cisplatin, cytarabine for refractory ovarian carcinoma and other malignancies principally confined to the peritoneal cavity. *J Clin Oncol* 1984;2:1321-1325.
3. Cavaliere R, Ciocatto B, Giovanella B, Heidelberger C, Johnson RO, Margottini M: Selective heat sensitivity of cancer cells. *Cancer* 1967;20:1351-1360.
4. Teicher BA, Kowal CD, Kennedy KA, Sartorelli AC: Enhancement by hyperthermia of the in vitro cytotoxicity of mitomycin C toward hypoxic tumor cells. *Cancer Res* 1981;41:1096-1099.
5. Sugarbaker PH, Landy D, Jaffe G, Pascal R: Histologic changes induced by intraperitoneal chemotherapy with 5-fluorouracil and mitomycin C in patients with peritoneal carcinomatosis from cystadenocarcinoma of the colon or appendix. *Cancer* 1980;65:1495-1501.
6. Bery C, Mialon A, Manchon M, Le KE, Panteix G, Baltassat P, Gilly FN, Carry PY: Biochemical modifications in the blood and the heated fluids during intraperitoneal chemohyperthermia. *Oncology* 1994;50:362-364, 1993.
7. Regelson W, Parker G: The routinization of intraperitoneal chemotherapy and immunotherapy. *Cancer Invest* 1994;4:29-42.
8. Das DK, Maulik N, Morav II: Gene expression in acute myocardial stress. Induction by hypoxia reperfusion, hyperthermia and oxidative stress. *J Moll Cell Cerdid* 1995;27(1):81-93.
9. Bozdoğan E, Tanrıverdi B, Büyükkıdan B: Halotan anestezisi altında alt ve üst batin cerrahisinde anestezi ve cerrahiye endokrin-metabolik yanıtın değerlendirilmesi. *Türk Anest Rean Mec* 1995;23:91-94.
10. Groenink L, van der Cugten J, Zethof T, Heyden J: Stress-induced hyperthermia in mice: Hormonal correlates. *Physiol Behav* 1994;56(4):747-9.
11. Groenink L, Compaan J, Cugten J, Zethof T, Heyde Olivier B: Stress-induced hyperthermia in mice. Pharmacological and endocri aspects. *Ann N Y Acad Sci* 1995;771:252-6.
12. Gram LF, Cristensen L, Kristensen CB, Kragh-Sorenson P: Suppression of plasma cortisol after oral administration of oxazepam in man. *Br J Clin Pharm* 1984;17:176-8.
13. Kolageros KT, Cologero AE, Kuribayoshi T: In vitro and in vivo effects of the triazolobenzodiazepine Alprazolam on hypothalamic-pituitary adrenal function. *J Clin Endoc Met* 1990;70:1462-71.
14. De Souza EB, Anholt RRH, Murph KMM, Snyder SH, Kuhar MJ: Peripheral type benzodiazepine receptors in endocrine organs. *Endocrinology* 1985;116:567-73.
15. Oyama T, Takazawa T: Effects of halotane anesthesia and surgery on human growth hormone and insuline levels in plasma. *Br J Anaesth*

1971;43:231-5.

16. Korkut N, Çelebi H, Özkurt M: Cerrahi endokrin ve metabolik yanıtın baskılanmasında çeşitli cerrahi yöntemlerin rolü. *Türk Anest Rean Mec* 1991;18:202-5.

17. Sorenson RL, Garry DC, Brelge TC: Structural and functional considerations of GABA in islets of Langerhans. *Diabetes* 1991;40:1365-1374.

18. Desborough JP, Hall GM, Hart GR, Burrin JM: Midazolam modifies pancreatic and anterior pituitary hormone secretion during upper abdominal surgery.

Br J Surg 1991;67:390-394.

19. Desborough JP, Jones PM, Persoud SJ, Hawel SL: Effects of midazolam on insulin secretion from isolated rat pancreatic islets of Langerhans. *Br J Anaesth* 1993;70(2):221-225.

YAZIŞMA ADRESİ:

Dr.Serdar ERKASAP

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi ABD

ESKİŞEHİR