

Kardiyopulmoner bypass sırasında sistemik lökosit filtrasyonunun ameliyat sonrası erken dönem miyokard fonksiyonu üzerine etkisi

The influence of leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass on early postoperative myocardial function

Ömer Naci Emiroğulları, Fatih Aşgün¹, Cemal Kahraman, Kutay Taşdemir,
Hakan Ceyran, Faruk Serhatlıoğlu, Reha Arsan, Ali Özbek

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Kayseri

¹Karşıyaka Devlet Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği, İzmir

Amaç: Bu çalışmada kardiyopulmoner bypass (KPB) ameliyatında sistemik lökosit filtrasyonunun ameliyat sonrası erken dönem kalp fonksiyonları üzerine olan etkisi araştırıldı.

Çalışma planı: Elektif koroner arter bypass cerrahisi (KABC) uygulanacak 30 hasta çalışmaya alınarak eşit sayıda iki gruba ayrıldı, gruplardan biri standart arteriyel hat filtresinin kullanıldığı kontrol grubunu, diğeri lökosit filtrasyonu uygulanan çalışma grubunu oluşturdu. Çalışma grubunda standart filtre ile lökosit filtresi paralel olarak KPB sistemine bağlandı ve reperfüzyon aşamasından itibaren lökosit filtrasyonu uygulandı. Elde edilen veriler uygun istatistiksel yöntem kullanılarak kıyaslandı.

Bulgular: Gruplar arasında ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası erken dönem veriler açısından farklılık yoktu. Benzer şekilde tam kan sayımı, miyokardiyal ve renal hasarın biyokimyasal belirleyicileri, sistemik ve koroner sinus kanında malondialdehit düzeyi, hemodinamik ölçümler, inotropik destek ihtiyacı, mekanik ventilasyon süresi, yoğun bakım ünitesinde ve hastanede yatış süreleri arasında anlamlı farklılık bulunamadı. Periferik kanda nötrofil sayıları ile biyokimyasal miyokard hasar belirleyicileri arasında doğrusal bir ilişkinin bulunduğu saptandı.

Sonuç: Elektif KABC uygulanan hastalarda reperfüzyon aşamasında ve sonrasında arteriyel hat üzerinden sistemik lökosit filtrasyonu uygulanması periferik kandaki lökosit sayısını yeterli düzeyde düşürememektedir ve yeterli miyokard koruması sağlamamaktadır. Bu nedenle lökosit filtrasyonunun elektif olgularda rutin kullanımı önerilmemiştir, ancak ameliyat sonrası komplikasyon gelişimine aday hastalarda uygulanması daha yararlı sonuçlar ortaya koyabilir.

Anahtar sözcükler: Kardiyopulmoner bypass; filtrasyon; lökosit.

Background: We studied the effects of systemic leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass (CPB) on early postoperative heart functions.

Methods: Thirty patients scheduled for an elective coronary artery bypass grafting (CABG) were registered for study and divided equally into two groups. Conventional arterial line filter was used in the control group while in the leukocyte filtration group, a commercially available leukocyte filter and a conventional arterial line filter were parallelly incorporated into the CPB circuit, and the blood was filtered during reperfusion phase and the rest of CPB duration.

Results: Preoperative and intraoperative data did not reveal any differences between two groups. Similarly, no statistically significant difference was present in terms of complete blood count, biochemical markers of myocardial and renal damage, malondialdehyde levels in systemic blood and coronary sinus effluent, hemodynamic measurements, inotropic support requirement, duration of mechanic ventilation, and length of intensive care unit and hospital stay. There was a linear correlation between neutrophil counts and myocardial damage markers in peripheric blood samples.

Conclusion: We concluded that, in the elective CABG patients, leukocyte filtration through arterial line during reperfusion period does not reduce enoughly the leukocyte count in peripheric blood, and does not provide enough myocardial protection. Therefore we do not suggest the routine use of such filters in elective cardiac surgery cases, however, it may be more beneficial to use it in patients who are prone to complications.

Key words: Cardiopulmonary bypass; filtration; leukocytes.

Kardiyopulmoner bypass (KPB) uygulanması, cerraha hareketsiz, kansız ve yeterli dolaşımın güvenlik altına alındığı bir alan sağlarken pek çok patolojik sürecin yaşanmasına da neden olur. Bu süreçlerin başında reperfüzyon ve kanın yabancı yüzeylerle teması sonucu oluşan reaksiyonlar gelir.^[1,2] Bu reaksiyonlar inflamasyon sürecini tetikleyerek, normal koşullarda organizma için koruyucu olan mekanizmayı hastanın aleyhinde çalıştırmaya başlar.^[3-6] Bu mekanizmanın önlenmesi için araştırılan yöntemlerden biri de vücut dışı dolaşım sırasında lökosit filtrasyonudur.

Bu çalışmada KPB sırasında sistemik lökosit filtrasyonunun ameliyat sonrası erken dönem miyokard fonksiyonları üzerine etkisi araştırıldı.

HASTALAR VE YÖNTEMLER

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı ile Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda elektif koroner arter bypass cerrahisi (KABC) uygulanan 30 hasta eşit sayıda iki gruba ayrıldı. Kontrol grubunda (Grup 1, n=15) standart 40 mm'lik mikropartikül filtresi (Dideco D734; Mirandola, Italy) oksijenatör sonrasında arteriyel hatta yerleştirildi. Kardiyopleji için gereken kan filtre üzerinden ayrılan ayrı bir hattan alındı. Tüm KPB sürecinde standart filtre kullanıldı. Çalışma grubunda (Grup 2, n=15) standart filtre (Dideco D734, Mirandola; Italy) ile lökosit filtresi (Leukoguard LG6B; Pall Biomedical Products, East Hills, NY) paralel olarak oksijenatör sonrası arteriyel hatta bağlandı. Lökosit filtresinin giriş ve çıkış hatları klemlenerek perfüzyona standart filtre ile başlandı. Kardiyopleji için ihtiyaç duyulan kan lökosit filtresinin giriş hattındaki klemp açılarak filtre üzerinden verildi ve klemp tekrar kapatıldı. Isınmaya başladığında lökosit filtresinin giriş ve çıkışındaki klemler açılarak standart filtre girişi klemlendi ve perfüzyona lökosit filtresi ile devam edildi.

Tüm hastalara standart anestezi, perfüzyon ve KABC uygulandı.

Çalışma dışı kalma kriterleri:

- 1- Acil cerrahi uygulananlar.
- 2- Tekrar ameliyatlar.
- 3- 75 yaş ve üzerinde olanlar.
- 4- Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu %35 ve altında olanlar.
- 5- Sol ventrikül anevrizması bulunanlar.
- 6- Kararsız anjina pektoris öyküsü bulunanlar.
- 7- Kalp içi veya kalp dışı ek cerrahi işlem uygulama gereksinimi olanlar.

8- Hematolojik hastalığı olanlar.

9- Periferik arter hastalığı olanlar.

10- Kronik tıkalı akciğer hastalığı bulunanlar.

11- Ameliyat sonrası dönemde kanama nedeniyle re-eksplorasyon uygulananlar.

12- Ameliyat sonrası perikardiyal tamponad.

13- Ameliyat sonrası enfeksiyon gelişen olgular.

olarak belirlendi.

Tüm hastaların yaş, cinsiyet, Kanada Kalp Damar Birliği'nin (Canadian Cardiovascular Society-CCS) sınıflamasına göre anjina evresi koroner arter hastalığı için taşıdıkları risk faktörleri (diyabet, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, sigara, aile öyküsü), geçirilmiş miyokard infarktüsü öyküsü, yapılan distal anastomoz sayısı, süreler (toplam cerrahi, KPB, aortik kros klemp, ventilatör, yoğun bakım ve servis süreleri), inotropik ilaç kullanımı ve dozları, toplam mediastinal kanama miktarı, toplam kan transfüzyonu miktarı ve ameliyat sonrası dönemde gelişen komplikasyon bilgileri kaydedildi. Ameliyat öncesi ve sırasındaki veriler Tablo 1'de görülmektedir.

Ölçümü yapılan veriler ameliyat öncesi dönemde (Faz 0), indüksiyondan sonra ancak sternotomiden önce (Faz 1), perfüzyona başladıktan sonra ancak aortik kros klemp konmadan önce (Faz 2), KPB sırasında aortik kros klemp kaldırılıp proksimal anastomozların tamamlanmasını takiben yan klempin alınmasından sonra (Faz 3), perfüzyondan çıkıldıktan sonra ancak sternum kapatılmadan önce (Faz 4), ameliyat sonrası 1. saatte (Faz 5), 6. saatte (Faz 6), 12. saatte (Faz 7), 24. saatte (Faz 8), 2. günde (Faz 9) ve 4. günde (Faz 10) toplandı.

Kayıd yapılan veriler hemodinamik veriler (kalp atım hızı, sistolik, diyastolik, ortalama sistemik arter ve pulmoner arter basınçları, pulmoner kapiller saptama basıncı, merkezi venöz basınç, kalp debisi, kalp debi indeksi, sistemik ve pulmoner damar dirençleri, sağ ve sol ventrikül atım işi indeksleri), tam kan sayımı (hemoglobün düzeyi, beyaz kan hücresi sayısı, nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil, bazofil oranları, trombosit sayısı), sistemik ve koroner sinüs kanında miyokardiyal hasar belirleyicileri (kreatin kinaz-CK düzeyi, kreatin kinaz MB-CKMB izoenzimi düzeyi, troponin I düzeyi), sistemik ve koroner sinüs kanında malondialdehit (MDA) düzeyi idi. Hemodinamik veriler hastanın invaziv monitörizasyonunun devam ettiği KPB öncesi (Faz 1), KPB sonrası (Faz 4) ve ameliyat sonrası fazlarda (Faz 5-9) kaydedildi. Bu verilerden kalp hızı, kalp ritminin tipi, sistolik ve diyastolik arter basınçları Faz 0 ve 10'da da alındı. Tam kan sayımı tüm fazlarda, sistemik

Tablo 1. Hastaların ameliyat öncesi, sırası ve sonrası verilerinin gruplara göre dağılımı

	Grup 1		Grup 2		p
	Sayı	Ort±SS	Sayı	Ort±SS	
Ortalama yaş (yıl)		64.60±7.12		61.40±8.84	0.285
Cinsiyet (K/E)	4/11		3/12		0.666
CCS'ye göre anjina evresi					0.254
Evre I	2		6		
Evre II	9		6		
Evre III	4		3		
Evre IV	0		0		
Koroner arter hastalığı için risk faktörleri					
Diyabet	5		6		0.705
Hipertansiyon	5		3		0.409
Hiperkolesterolemi	0		0		–
Sigara içimi	5		7		
Aile öyküsü	3		4		0.666
Geçirilmiş miyokard infarktüsü öyküsü	6		8		0.464
Geçirilmiş PTCA öyküsü	2		2		–
Miyokard performansı					
Ejeksiyon fraksiyonu (%)		57.0±8.19		58.0±7.02	0.251
Diyastol sonu sol ventrikül basıncı (mmHg)		16.73±4.68		15.93±6.01	0.687
Ventrikül performans skor indeksi		1.68±0.36		1.62±0.27	0.644
Uygulanan distal anastomoz sayısı (adet)					0.710
2'li bypass	3		3		
3'lü bypass	5		7		
4'lü bypass	4		4		
5'li bypass	3		1		
Süreler					
Toplam cerrahi süresi (dk)		320.47±56.16		298.53±45.76	0.251
Kardiyopulmoner bypass süresi (dk)		111.87±24.72		101.53±15.0	0.180
Aortik kros klemp süresi (dk)		40.47±7.68		39.80±6.12	0.795
Ventilatör süresi (saat)		8.40±2.64		8.93±2.71	0.590
Yoğun bakım ünitesinde yatış süresi (saat)		44.80±5.28		44.93±4.95	0.944
Cerrahi sonrası serviste yatış süresi (gün)		9.20±1.66		8.87±1.88	0.611
İnotropik ilaç kullanımı	5		5		–
Toplam inotropik ilaç dozları (mg)					
Dopamin		219.10±430.69		135.76±205.88	0.507
Dobutamin		146.70±387.24		79.52±149.80	0.539
Adrenalin		2.44±7.77		1.65±4.37	0.735
Toplam mediastinal kanama miktarı (mL)		833.33±240.61		782.33±200.97	0.534
Toplam kan transfüzyonu (ünite)		5.13±2.90		4.40±2.61	0.473
Ameliyat sonrası komplikasyonlar					
Atriyal fibrilasyon	2		1		0.543
Re-eksplorasyon gerektirmeyen kanama	2		1		0.543

PTCA: Percutaneous transluminal coronary angioplasty; CCS: Kanada Kalp-Damar Birliği (Canadian Cardiovascular Society).

kanda miyokard hasar belirleyicileri ameliyat öncesi dönemde (Faz 0) ve ameliyat sonrası fazlarda (Faz 5-10) ölçüldü. Aortik kros klemp öncesi (Faz 2) ve sonrası (Faz 3) eşanlı olarak sistemik ve koroner sinüs kanında miyokard hasar belirleyicileri ve MDA düzeyleri için kan örnekleri alındı.

Tüm hastalara standart anestezi, perfüzyon ve KABC uygulandı.

Tüm istatistiksel hesaplamalar bilgisayardaki veri tabanında kayıtlı bilgilerin aktarıldığı bir paket program (SPSS for Windows Version 8.0.0, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) aracılığıyla gerçekleştirildi. Ölçümsel veriler ortalama ve standart sapma şeklinde belirtilerek ifade edildi. Bağımsız örneklerin gruplar arası karşılaştırması Mann-Whitney U testiyle, cerrahi veya işlem öncesi ve sonrası ölçümlerle elde edilen bağımlı örneklerin incelenmesi ise Wilcoxon işaretli sıra testi ile yapıldı.

Tablo 2. Çalışmaya alınan olguların tam kan sayımlarının gruplara göre dağılımı

	Grup 1	Grup 2	p
	Ort.±SS	Ort.±SS	
Hemoglobin (gr/dL)			
Faz 0	12.73±1.0	13.11±1.10	0.272
Faz 1	10.95±0.86	11.27±0.95	0.233
Faz 2	7.20±0.56	7.43±0.62	0.289
Faz 3	8.00±0.62	8.24±0.71	0.361
Faz 4	9.29±0.73	9.59±0.81	0.435
Faz 5	10.79±0.84	11.13±0.94	0.305
Faz 6	10.64±0.84	10.97±0.92	0.245
Faz 7	11.14±0.88	11.467±0.96	0.253
Faz 8	11.81±0.93	12.16±1.02	0.262
Faz 9	12.01±0.95	12.36±1.04	0.457
Faz 10	11.71±0.93	12.06±1.02	0.302
Trombosit sayısı (adet/mL)			
Faz 0	32.533.33±58.655.0	222.400.0±54.947.77	0.724
Faz 1	184.733.33±54.729.81	179.066.67±60.221.57	0.917
Faz 2	106.533.33±33.399.89	101.533.33±28.030.26	0.693
Faz 3	126.866.67±31.595.36	112.066.67±35.992.99	0.395
Faz 4	136.533.33±34.479.53	130.066.67±30.334.96	0.604
Faz 5	141.333.33±37.844.92	137.600.00±32.239.73	0.983
Faz 6	119.333.33±32.061.70	114.266.67±27.075.20	0.709
Faz 7	119.133.33±27.286.49	112.533.33±22.573.27	0.533
Faz 8	113.600.00±26.081.74	109.000.00±21.931.71	0.678
Faz 9	109.266.67±31.546.94	102.000.00±17.896.53	0.633
Faz 10	117.800.00±37.894.97	115.000.00±16.974.77	0.819
Toplam lökosit sayısı (adet/mL)			
Faz 0	7.913.33±1.591.88	7.486.67±1.628.26	0.547
Faz 1	6.120.0±1.220.77	5.840.0±1.256.87	0.663
Faz 2	4.280.0±771.08	4.173.33±792.34	0.950
Faz 3	5.773.33±1.411.42	4.866.67±996.18	0.106
Faz 4	6.006.67±1.298.61	5.486.67±995.61	0.454
Faz 5	10.180.0±2.287.92	9.720.0±2.263.44	0.836
Faz 6	12.586.67±2.714.74	11.846.67±2.565.67	0.443
Faz 7	12.426.67±2.340.17	11.980.0±2.308.43	0.740
Faz 8	14.360.0±2.904.13	13.960.0±2.758.31	0.693
Faz 9	8.813.33±2.008.51	8.486.67±2.091.43	0.803
Faz 10	8.326.67±2.632.62	8.313.33±1.784.40	0.756

Kategorik veriler sayı (n) ve yüzdeler (%) şeklinde belirtilerek Pearson Ki-kare testi ile kıyaslandı. Tekrarlayan ölçümlerle elde edilen ve tek örneklem Kolmogorov-Smirnov Z testi ile normal standart dağılıma uygunluk gösteren niceliksel veriler arasında anlamlı farkın araştırılması tekrarlayan ölçümler için varyans analizi (ANOVA) kullanılarak tek değişkenli (univariate) yöntemle yapıldı. Mauchly's Sphericity testinin koşulları sağlanmadığında Huynh-Feldt Epsilon düzeltmesinden yararlanıldı. Farkı yaratan ölçüm fazının incelenmesi (Post Hoc) Bonferroni düzeltmeli eşleştirilmiş kıyaslama testi ile yapıldı. Normal standart dağılıma uygunluk göstermeyen tekrarlı ölçümlerle elde edilmiş verilerin kıyaslanmasında Friedman testi kullanıldı ve Post Hoc

analizi varyans analizi eşitliği kabulüne göre Tukey's HSD testi veya Tamhane's T² testi ile yapıldı. Yüzde 95 güvenlik sınırında elde edilen iki yönlü p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edildi. Lökosit sayıları ile biyokimyasal hasar belirleyicileri arasındaki ilişkinin araştırılması korelasyon ve doğrusal regresyon analizi yöntemi ile yapıldı, elde edilen ilişkinin düzeyi korelasyon katsayısı (r), belirtme katsayısı (r²) ve istatistiksel anlam seviyesi (p) şeklinde ifade edildi.

BULGULAR

Grupların ameliyat öncesi ve ameliyat özellikleri benzerdi. Olguların mekanik ventilasyonla takip, yoğun bakım ünitesinde ve hastanede ortalama yatış

Tablo 3. Çalışmaya alınan olguların lökosit formüllerinin gruplara göre dağılımı

	Grup 1 %	Grup 2 %	p
Nötrofil			
Faz 0	64.33±9.86	65.53±8.54	0.983
Faz 1	62.2±10.21	63.93±7.86	0.787
Faz 2	67.27±7.85	69.33±7.36	0.893
Faz 3	74.27±7.24	76.07±7.01	0.130
Faz 4	79.4±8.22	81.80±7.41	0.520
Faz 5	86.47±5.82	87.93±4.65	0.787
Faz 6	80.40±6.33	82.00±4.49	0.633
Faz 7	86.87±6.09	87.80±4.86	0.852
Faz 8	79.87±7.48	81.00±4.49	0.932
Faz 9	73.87±7.14	75.27±4.93	0.756
Faz 10	76.07±4.17	77.60±6.32	0.950
Lenfosit			
Faz 0	25.07±7.06	24.27±5.97	0.724
Faz 1	29.20±7.90	27.73±6.02	0.917
Faz 2	26.13±6.29	24.60±6.06	0.693
Faz 3	21.60±6.02	20.20±5.88	0.395
Faz 4	10.53±4.07	9.40±3.72	0.604
Faz 5	7.07±2.99	6.27±2.37	0.983
Faz 6	5.00±1.73	4.73±1.16	0.709
Faz 7	5.27±2.52	4.93±1.91	0.533
Faz 8	5.13±1.81	4.80±1.15	0.678
Faz 9	6.73±1.79	6.33±1.23	0.633
Faz 10	13.2±2.34	12.27±3.35	0.819
Monosit			
Faz 0	8.27±2.31	8.07±2.12	0.983
Faz 1	6.60±1.88	6.40±1.50	0.885
Faz 2	4.33±1.11	4.13±1.13	0.868
Faz 3	3.20±0.86	3.00±0.93	0.221
Faz 4	8.27±3.28	7.13±2.90	0.281
Faz 5	5.73±2.43	5.13±2.10	0.590
Faz 6	13.67±4.50	12.47±3.25	0.548
Faz 7	7.40±3.38	7.00±2.67	0.778
Faz 8	14.33±5.52	13.60±3.42	0.868
Faz 9	18.20±4.89	17.20±3.47	0.548
Faz 10	8.07±1.67	7.60±2.26	0.507
Eozinofil			
Faz 0	2.20±0.68	2.27±0.59	0.787
Faz 1	1.80±0.41	1.67±0.62	0.290
Faz 2	1.80±0.56	1.60±0.51	0.329
Faz 3	1.20±0.41	1.07±0.26	0.106
Faz 4	1.80±0.86	1.60±0.74	0.430
Faz 5	0.93±0.46	0.87±0.35	0.678
Faz 6	0.67±0.49	0.40±0.51	0.149
Faz 7	0.33±0.49	0.20±0.41	0.379
Faz 8	0.80±0.41	0.87±0.35	0.934
Faz 9	1.33±0.49	1.20±0.41	0.506
Faz 10	2.53±0.52	2.47±0.74	0.633
Bazofil			
Faz 0	0.13±0.35	0.07±0.26	0.542
Faz 1	0.20±0.41	0.20±0.41	0.976
Faz 2	0.20±0.41	0.20±0.41	0.953
Faz 3	0.13±0.35	0.07±0.26	0.518
Faz 4	0.07±0.26	0.13±0.35	0.498
Faz 5	0.20±0.41	0.13±0.35	0.632
Faz 6	0.13±0.35	0.20±0.41	0.587
Faz 7	0.13±0.35	0.13±0.35	0.888
Faz 8	0.13±0.35	0.07±0.26	0.498
Faz 9	0.07±0.26	0.13±0.35	0.531
Faz 10	0.07±0.26	0.13±0.35	0.498

süreleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamadı. Ameliyat sonrası dönemde inotropik ilaç desteği, atriyal fibrilasyon gelişimi, kanama sorunu ve toplam drenaj miktarları açısından iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Çalışmaya alınan hastaların hiç birinde majör komplikasyon gelişmedi. Hastanede kalış süresi içerisinde mortalite görülmedi (Tablo 1).

Olguların trombosit sayıları toplam lökosit sayıları ve lökosit formülleri hiçbir ölçüm fazı içinde farklılık göstermedi (Tablo 2, 3).

Sistemik kanda miyokard hasar düzeyini gösteren serum enzimleri (CK, CKMB, troponin I) ve MDA düzeyleri gruplar arasında hiçbir fazda anlamlı farklılık göstermedi ($p>0.05$). Bu dört hasar belirleyicisinin de aortik kros klempden sonraki ölçüm fazında hızla arttığı görüldü (Tablo 4). Aortik kros klemp öncesi KPB başlangıcında ve kros klemp sonrası koroner sinüs kanından alınan örneklerde CK, CKMB, troponin I ve MDA düzeylerinde anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0.001$), fakat bu artış açısından iki grup arasında fark yoktu ($p>0.05$). Periferik kanda nötrofil sayısı ile plazma CK, CKMB, troponin I ve MDA düzeyleri arasında anlamlı pozitif yönde doğrusal bir ilişki tespit edildi. İlişki düzeyi CK için $r=0.53$, $r^2=0.28$ ve $p<0.001$; CKMB için $r=0.19$, $r^2=0.04$ ve $p=0.02$; troponin I için $r=0.68$, $r^2=0.46$ ve $p<0.001$; MDA için $r=0.52$, $r^2=0.27$ ve $p<0.001$ olarak bulundu (Şekil 1). Korelasyonun troponin I'de en güçlü, CKMB'de en zayıf olduğu görüldü.

Hastaların kıyaslanan hemodinamik parametrelerinden sadece pulmoner damar direncinin ameliyat sonrası 24'üncü saatte grup 2'de anlamlı düzeyde düşük olduğu (grup 1'de 183.00 ± 18.43 dyne/sn/cm-5'e karşılık grup 2'de 168.93 ± 14.51 dyne/sn/cm-5, $p=0.05$) tespit edildi. Ameliyat sonrası 48'inci saatte de pulmoner damar direnci değerinin grup 2'de düşük olmasına karşın aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (301.47 ± 39.20 dyne/sn/cm-5'e karşılık 270 ± 40.97 dyne/sn/cm-5; $p=0.06$). Değerlendirilen diğer parametrelerde her bir ölçüm zamanında gruplar arası anlamlı fark yoktu (Tablo 5).

TARTIŞMA

Nötrofil ve monositlerin ameliyat sonrası 24. saate kadar periferik kandaki sayılarının artışı ve daha sonra düşüşü, lökositoz oluşumunu tetikleyen faktörlerin 24. saate kadar aktivitelerini devam ettirdiklerini ancak bundan sonra azalarak etkilerini kaybettiklerini gösteriyor olabilir. Yapılan çalışmalarda da açık kalp cerrahisinden sonra, şok veya enfeksiyon gibi ikinci bir epizot yokluğunda, lökosit-endotel etkileşiminin 24-48 saat içinde ortadan kaybolduğu gösterilmiştir.^[7] Kardiyopulmoner bypass başında hızla düşen trombosit ve lenfosit sayıları ise geri kalan tüm ölçüm fazlarında ameliyat öncesi

Tablo 4. Çalışmaya alınan olguların serum enzimlerinin gruplara göre dağılımı

	Grup 1	Grup 2	p
Sistemik kanda CK (U/L)			
Faz 0	60.47±42.14	58.80±24.47	0.673
Faz 2	132.00±53.71	124.07±53.17	0.575
Faz 3	447.93±197.04	453.27±159.81	0.852
Faz 5	552.33±184.12	548.00±191.04	0.756
Faz 6	621.73±188.99	611.60±190.88	0.740
Faz 7	594.53±186.52	581.13±172.05	0.663
Faz 8	506.40±150.63	490.40±159.50	0.547
Faz 9	370.40±145.77	359.67±93.99	0.852
Faz 10	173.73±73.58	153.53±51.68	0.468
Sistemik kanda CK-MB (U/L)			
Faz 0	13.87±7.20	11.80±5.07	0.492
Faz 2	25.20±7.13	22.67±9.93	0.271
Faz 3	76.47±29.46	75.20±25.39	0.950
Faz 5	62.73±16.27	59.60±20.98	0.619
Faz 6	55.93±14.18	53.27±16.12	0.480
Faz 7	46.80±12.81	45.67±13.57	0.787
Faz 8	40.27±9.50	38.33±12.42	0.547
Faz 9	22.87±7.40	21.67±5.90	0.819
Faz 10	19.20±5.88	15.80±5.48	0.197
Sistemik kanda troponin I (ng/mL)			
Faz 0	0.09±0.02	0.07±0.02	0.137
Faz 2	0.14±0.02	0.15±0.13	0.175
Faz 3	0.87±0.32	0.82±0.29	0.724
Faz 5	2.38±0.62	2.26±0.80	0.619
Faz 6	2.26±0.57	2.15±0.65	0.468
Faz 7	2.99±0.70	2.83±0.84	0.633
Faz 8	2.69±0.64	2.57±0.83	0.547
Faz 9	1.58±0.51	1.49±0.41	0.819
Faz 10	0.72±0.22	0.60±0.21	0.170
Sistemik kanda malondialdehit (µmol/L)			
Faz 2	1.26±0.20	1.13±0.45	0.168
Faz 3	2.29±0.84	2.12±0.72	0.663
Koroner sinüs kanında CK (U/L)			
Faz 2	140.47±57.40	131.93±56.77	0.575
Faz 3	478.00±210.40	483.73±170.78	0.852
Koroner sinüs kanında CK-MB (U/L)			
Faz 2	26.47±7.68	23.73±10.68	0.271
Faz 3	81.93±30.94	79.13±28.08	0.836
Koroner sinüs kanında troponin I (ng/mL)			
Faz 2	0.18±0.03	0.19±0.18	0.109
Faz 3	1.08±0.39	1.01±0.36	0.724
Koroner sinüs kanında malondialdehit (µmol/L)			
Faz 2	1.74±0.24	1.59±0.46	0.152
Faz 3	2.79±1.02	2.66±0.89	0.819

CK: Kreatin kinaz; CK-MB: Kreatin kinaz MB.

değerlerinin çok altında kalmıştır. Çoğu alt lökosit hücre topluluğu KPB'den dört gün sonra ameliyat öncesi değerlerine dönse de lenfosit ve trombosit sayılarının bu düşük seyri ameliyat sonrası komplikasyon oluşumu

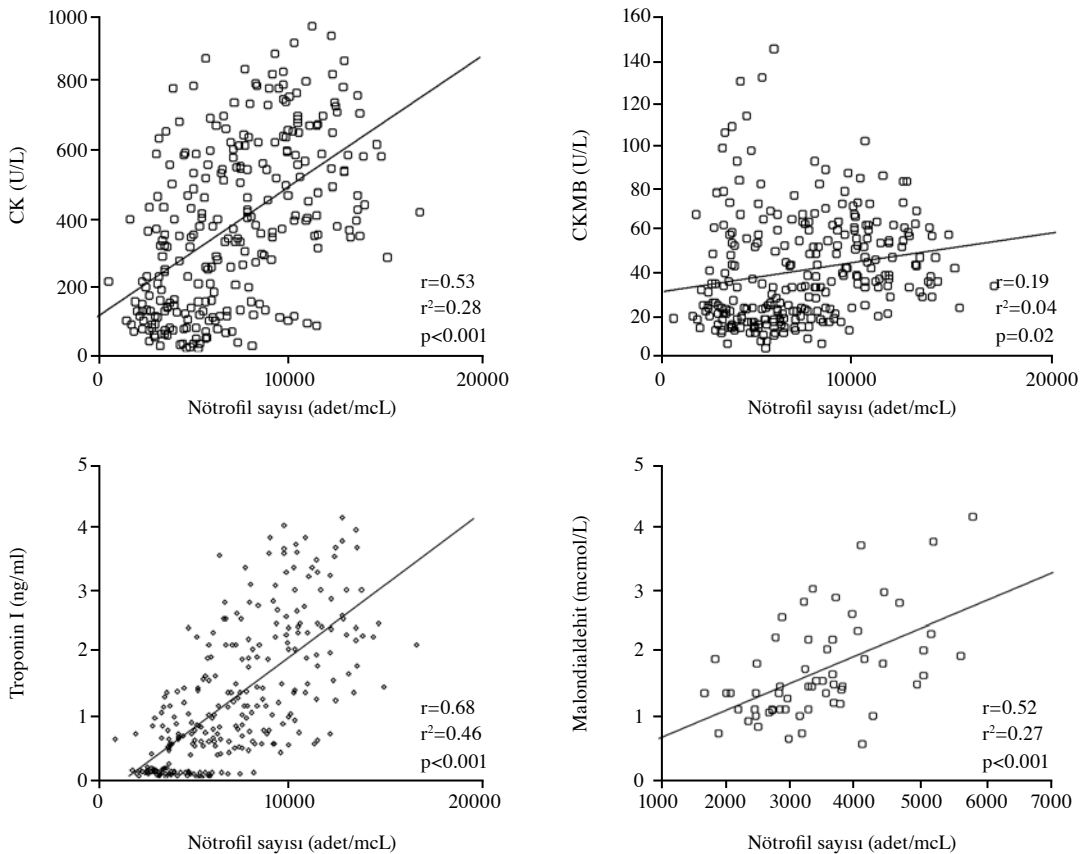
üzerine önemli etkilerde bulunabilir. Kardiyopulmoner bypass'ın lenfosit sayısı üzerine olan belirgin olumsuz etkisi humoral immüniteyi bozan önemli bir faktördür ve ameliyat sonrası dönemde enfeksiyon riskinde artı-

şa yol açan bir neden olabilir. Trombosit sayısının da KPB'den bu şekilde etkilenmesi, trombosit fonksiyon kaybı, pıhtılaşma faktörlerinin dilüsyonel olarak ve/veya mikrovasküler trombozla tüketilmesi ve artmış fibrinolitik aktivite ile birlikte ameliyat sonrası dönemde görülen koagülopati gelişiminde önemli bir faktör olabilir.

Çalışmamızda aortik kros klemp kaldırıldıktan sonraki ölçüm fazlarında lökosit filtrasyonu uygulanan grupta toplam lökosit sayısı bir miktar düşük seyretmiş olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı düzeye erişmemiştir. Granülosit ve mononükleer hücre sayılarının iki grup arasında benzer olması ya yeterli filtrasyon etkinliğinin elde edilememiş olması ya da ağırlıklı olarak aktive lökositlerin dolaşımdan ayrılmış olması ile açıklanabilir. Yapılan bazı klinik çalışmalarda da, gerek arteriyel hat üzerinden uygulanan sistemik lökosit filtrasyonu gerekse lökositleri filtre edilmiş kan kardiyoplejisi ile elde edilen veriler tartışmalı sonuçlar ortaya koymuştur.^[8-14] Laboratuvar çalışmalarında %70-75 lökosit tutma etkinliğine sahip olduğu gösterilen filtrelerin klinik uygulamada bu sonuçları elde edememesi başlıca iki nedene bağlanmıştır;^[9,10,14,15] (i) sistemik dolaşımdaki büyük lökosit popülasyonu nedeniyle filtreler bir süre sonra ya doygunluk düzeyine erişip lökosit tutmuyor ya da yakaladığı lökositleri bırakıyor olabilir

veya (ii) filtre lökosit yakalamaya devam etse de kemik iliğinden büyük miktarda yeni lökosit dolaşıma aktarıyor olabilir. Smit ve ark.^[15] Gott ve ark.^[16] ve Baksaas ve ark.^[17] tarafından yapılan çalışmalarda filtre etkinliğinin zaman içerisinde azaldığı gösterilmiştir. Wilson ve ark.nın^[18] yaptığı çalışmada ise KPB sonrasında dolaşımdaki immatür lökosit sayısının arttığı gösterilmiş ve bu durum dolaşıma bol miktarda yeni lökosit geçişine bağlanmıştır. Yukarıda bahsedilen çalışmalar, nedeni ne olursa olsun mevcut arteriyel hat lökosit filtrelerinin tüm KPB sürecinde yeterli miktarda lökosit dolaşımdan ayıramadığı görüşündedir.^[9,10,12,14,19] Buna karşılık özellikle hayvan çalışmalarında sistemik lökosit filtrasyonu ile sistemik dolaşımdaki lökosit sayısında anlamlı düşüş elde edilmiştir.^[15-17,20-22]

Teorik olarak filtrelerin örgülü olmayan polyester süzme ortamları aktive trombositleri de dolaşımdan ayırmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda arteriyel hatta sistemik lökosit filtresi kullanımının trombosit sayısını anlamlı düzeyde düşürmediği, ameliyat sonrası mediastinal drenaj miktarları ve transfüze edilen kan miktarları arasında anlamlı fark bulunmadığı gösterilmiştir.^[8-10,13,17,19,20] Yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar bu bulguları desteklemektedir; kontrol grubu ile lökosit filtresi grubu arasında trombosit sayıları tüm



Şekil 1. Miyokardiyal hasar ve malondialdehit düzeyleri ile nötrofil sayıları arasındaki ilişki.

Tablo 5. Çalışmaya alınan olguların hemodinamik verilerinin gruplara göre dağılımı

	Grup 1	Grup 2	p
CO (L/dk)			
Faz 1	2.81±0.54	2.88±0.41	0.648
Faz 4	2.97±0.42	2.89±0.27	0.967
Faz 5	3.32±0.45	3.51±0.37	0.237
Faz 6	5.00±1.12	4.77±0.90	0.684
Faz 7	5.14±0.91	4.98±0.79	0.589
Faz 8	5.14±0.52	5.02±0.61	0.604
Faz 9	4.90±0.61	4.63±0.58	0.245
CI (L/dk/m ²)			
Faz 1	1.54±0.29	1.58±0.22	0.652
Faz 4	1.57±0.22	1.52±0.14	0.967
Faz 5	1.78±0.24	1.88±0.20	0.237
Faz 6	2.77±0.62	2.64±0.50	0.517
Faz 7	2.87±0.51	2.77±0.44	0.589
Faz 8	2.83±0.28	2.76±0.33	0.604
Faz 9	2.71±0.34	2.56±0.32	0.245
LVSWI (g.m/m ²)			
Faz 1	14.80±5.78	16.20±4.73	0.494
Faz 4	12.60±4.43	12.19±3.64	0.950
Faz 5	15.28±5.19	16.55±4.44	0.419
Faz 6	34.81±15.10	33.20±15.48	0.604
Faz 7	32.17±11.24	31.99±13.55	0.917
Faz 8	32.34±6.55	33.04±10.94	0.983
Faz 9	31.28±6.78	30.07±9.99	0.576
RVSWI (g.m/m ²)			
Faz 1	2.57±0.65	2.76±0.95	0.443
Faz 4	2.68±0.91	2.60±0.75	0.917
Faz 5	3.01±0.86	3.40±0.85	0.191
Faz 6	5.35±2.37	5.13±2.29	0.756
Faz 7	4.58±1.69	4.56±1.88	0.983
Faz 8	4.53±1.14	4.69±1.58	0.852
Faz 9	7.80±1.63	7.45±2.34	0.548
PVR (dyne/sn/cm ⁵)			
Faz 1	198.07±22.47	192.73±15.47	0.768
Faz 4	234.00±34.24	221.93±20.97	0.596
Faz 5	242.60±35.97	231.27±42.49	0.617
Faz 6	196.87±46.10	182.53±32.38	0.466
Faz 7	165.53±30.82	157.80±22.46	0.544
Faz 8	183.00±18.43	168.93±14.51	0.050*
Faz 9	301.47±39.20	270.33±40.97	0.063
MAP (mmHg)			
Faz 1	63.33±8.77	63.87±7.00	0.744
Faz 4	62.40±9.09	60.40±5.68	0.967
Faz 5	63.00±7.76	66.53±7.16	0.250
Faz 6	91.40±20.65	87.07±16.70	0.595
Faz 7	82.60±14.74	80.07±12.98	0.589
Faz 8	83.07±8.44	81.00±9.89	0.575
Faz 9	86.60±10.92	81.73±10.26	0.236
MPAP (mmHg)			
Faz 1	20.27±2.31	19.33±1.54	0.497
Faz 4	16.00±2.33	15.40±1.45	0.798
Faz 5	13.67±2.02	14.20±1.61	0.389
Faz 6	14.87±3.46	14.13±2.77	0.602
Faz 7	13.27±2.46	12.93±2.12	0.722
Faz 8	13.33±1.35	12.93±1.58	0.470
Faz 9	21.53±2.80	20.20±2.43	0.233
PCWP (mmHg)			
Faz 1	14.80±3.71	13.20±2.51	0.497
Faz 4	4.67±0.90	4.47±0.52	0.525
Faz 5	4.27±0.70	4.40±0.74	0.732
Faz 6	4.33±1.63	4.07±0.80	0.896
Faz 7	3.27±1.49	3.00±1.41	0.476
Faz 8	3.07±1.83	2.73±1.58	0.549
Faz 9	6.80±0.86	6.33±0.90	0.267

* İstatistiksel olarak anlamlı fark.

ölçüm zamanlarında anlamlı fark ortaya koymamıştır. Trombosit sayılarının zamana göre değişim profili her iki grupta aynı şekilde seyretmiştir. Ameliyat sonrası kanama miktarları, kanama gelişen hasta sayıları ve transfüzyon ihtiyacı açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Miyokard hasar ve fonksiyon belirleyicileri açısından iki grup arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. Sistemik kanda ve koroner sinüs kanında ölçülen CK, CKMB ve troponin I, her iki grupta da aortik kros klemp sonrası önemli bir artış göstermiştir. Her üç belirleyicinin hem sistemik hem de koroner sinüs kanındaki düzeyleri ve seyri hiçbir ölçüm fazında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya koymamıştır. Hemodinamik parametrelerden elde edilen bulgular miyokard fonksiyonundaki baskılanmanın ameliyat sonrası 1. saate kadar devam ettiğini ancak bu verilerin de gruplar arasında anlamlı fark ortaya koymadığını göstermektedir. Bu durum, elektif KABC hastalarında sistemik lökosit filtrasyonunun yeterli miyokard koruması sağlamadığı şeklinde yorumlanmış ve sistemik kandaki lökosit sayısının dolaşımdan yeterince ayrılamamış olmasına bağlanmıştır. Miyokard hasar belirleyicilerinin incelendiği literatürden elde edilen veriler gene net sonuçlar vermemektedir. Genelde, sistemik lökosit filtrasyonu uygulanmış klinik çalışmalarda miyokard hasar belirleyicilerinin düzeyleri kontrol gruplarından farksız bulunurken,^[11,13,16] kan kardiyoplejisinin filtrasyonunun yapıldığı klinik çalışmalarda ve hayvan çalışmalarında bu enzimlerin düzeyleri filtrasyon gruplarında anlamlı düşük bulunmuştur.^[23-27] Yapılan hayvan çalışmalarında^[18,27] lökosit filtrasyonunun sol ventrikül fonksiyonları üzerine olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiş olmasına karşılık klinik araştırmalarda^[12] bu fark elde edilememiştir. Birçok çalışmada kalp debisi, pulmoner arter basıncı ve PCWP lökosit filtrasyonu ve kontrol grubunda benzer bulunmuştur.^[12,24]

Oksidatif hücre hasarının belirleyicisi olarak kullandığımız MDA'nın gerek sistemik kanda gerekse koroner sinüs kanındaki düzeylerinin aortik çapraz klemp sonrası belirgin yükselişi, KPB boyunca membran peroksidasyonuna yol açan serbest oksijen radikali üretiminin hem miyokard hem de sistemik iskemi ve reperfüzyon ile arttığını ortaya koymaktadır. Ancak MDA düzeylerine göre iki grup arasında anlamlı farklılık ortaya konmamış olsa da, bizim çalışmamızda sistemik lökosit filtrasyonunun serbest radikal üretimini ve buna bağlı oluşan hasarı azaltmadığı görülmektedir. Genelde hayvan çalışmalarında ve lökosit filtre edilmiş kan kardiyoplejisi uygulanan çalışmalarda, başta koroner sinüs kanında olmak üzere MDA düzeyleri düşük bulunmuştur.^[26] Buna karşılık klinik çalışmalar anlamlı farklılıklar ortaya koymamıştır.^[10,23]

Çalışmamızda miyokard hasar belirleyicileri olarak kullanılan CK, CKMB ve troponin I düzeylerinin ve MDA'nın aortik kros klemp ve KPB sonrasında anlamlı olarak yükselmesi, ameliyat öncesi dönemde ciddi düzeyde iskemi yaşamayan miyokardın cerrahi sırasında kardiyopleji ve hipotermi gibi koruyucu önlemlere rağmen hasara uğradığını gösteren bir bulgudur. Lökosit kaynaklı proteolitik enzim (elastaz vb.) ve miyeloperoksidaz düzeyi araştırılmadığından lökosit aktivasyonu ile miyokardiyal hasar arasında doğrudan bir ilişki kurulamamıştır. Ancak plazma CK, CKMB, troponin I ve MDA değerleri ile periferik kanda nötrofil sayıları arasında pozitif yönde doğrusal bir ilişki (CK için $r^2=0.28$, CKMB için $r^2=0.04$, troponin I için $r^2=0.46$ ve MDA için $r^2=0.27$) tespit edilmiştir. Bu ilişki hasarın belli oranda granülositler tarafından oluşturulduğunu gösterebileceği gibi, hasarı oluşturan başka bir bağımsız değişkenin lökosit sayıları üzerine etki etmekte olduğunu da gösterebilir. Elde edilen bu sonuçlara dayanılarak çalışmaya aldığımız hastalarda belli düzeyde lökosit kaynaklı miyokard hasarının olduğu söylenebilir. Hasta grubumuzda, biyokimyasal belirleyicilerden ve fonksiyon ölçümlerinden elde edilen verilerde görülen bozulmalar belirgin bir morbidite ve mortalite oluşturmamış, yaşanan iskemi-reperfüzyon hasarı ve sistemik inflamatuvar yanıt subklinik bir seyir izlemiştir.

Sonuç olarak, elektif KABC uygulanan hastalarda reperfüzyon aşamasında ve sonrasında arteriyel hat üzerinden sistemik lökosit filtrasyonu uygulanması periferik kandaki lökosit sayısını yeterli düzeyde düşürmemektedir ve lökosit filtrasyonu yeterli miyokard koruması sağlamamaktadır. Bu nedenle lökosit filtrasyonunun elektif olgularda rutin kullanımı önerilmemiştir, ancak ameliyat sonrası komplikasyon gelişimine aday hastalarda uygulanması daha yararlı sonuçlar ortaya koyabilir.

KAYNAKLAR

1. Morris SJ. Leukocyte reduction in cardiovascular surgery. *Perfusion* 2001;16:371-80.
2. Matheis G, Scholz M, Simon A, Dzemali O, Moritz A. Leukocyte filtration in cardiac surgery: a review. *Perfusion* 2001;16:361-70.
3. Boyle EM, Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED. Ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1997;64:S24-30.
4. Paparella D, Yau TM, Young E. Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002;21:232-44.
5. Bruins P, te Velthuis H, Yazdanbakhsh AP, Jansen PG, van Hardevelt FW, de Beaumont EM, et al. Activation of the complement system during and after cardiopulmonary bypass surgery: postsurgery activation involves C-reactive protein and is associated with postoperative arrhythmia. *Circulation* 1997;96:3542-8.
6. Czerny M, Baumer H, Kilo J, Lassnigg A, Hamwi A, Vukovich T, et al. Inflammatory response and myocardial

- injury following coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;17:737-42.
7. Boyle EM, Pohlman TH, Johnson MC, Verrier ED. The systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg* 1997;64: S31-7.
8. Englander R, Cardarelli MG. Efficacy of leukocyte filters in the bypass circuit for infants undergoing cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1995;60(6 Suppl):S533-5.
9. Baksaas ST, Videm V, Mollnes TE, Tølløfsrud S, Hetland G, Pedersen T, et al. Leucocyte filtration during cardiopulmonary bypass hardly changed leucocyte counts and did not influence myeloperoxidase, complement, cytokines or platelets. *Perfusion* 1998;13:429-36.
10. Mair P, Hoermann C, Mair J, Margreiter J, Puschendorf B, Balogh D. Effects of a leucocyte depleting arterial line filter on perioperative proteolytic enzyme and oxygen free radical release in patients undergoing aortocoronary bypass surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999;43:452-7.
11. Matheis G, Scholz M, Gerber J, Abdel-Rahman U, Wimmer-Greinecker G, Moritz A. Leukocyte filtration in the early reperfusion phase on cardiopulmonary bypass reduces myocardial injury. *Perfusion* 2001;16:43-9.
12. Hurst T, Johnson D, Cujec B, Thomson D, Mycyk T, Burbridge B, et al. Depletion of activated neutrophils by a filter during cardiac valve surgery. *Can J Anaesth* 1997;44:131-9.
13. Yalçınbaş YK, Kınoğlu B, Bilal MS, Özkara A, Kocazeybek B, Köner Ö, ve ark. Konjenital kalp cerrahisinde kardiyo-pulmoner bypass sırasında leukoguard-6 lökosit filtresinin kullanımı ve etkilerinin değerlendirilmesi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 1995;3:236-44.
14. Whitaker DC, Stygall JA, Newman SP, Harrison MJ. The use of leucocyte-depleting and conventional arterial line filters in cardiac surgery: a systematic review of clinical studies. *Perfusion* 2001;16:433-46.
15. Smit JJ, de Vries AJ, Gu YJ, van Oeveren W. Efficiency and safety of leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass for cardiac surgery. *Transfus Sci* 1999;20:151-65.
16. Gott JP, Cooper WA, Schmidt FE Jr, Brown WM 3rd, Wright CE, Merlino JD, et al. Modifying risk for extracorporeal circulation: trial of four anti-inflammatory strategies. *Ann Thorac Surg* 1998;66:747-53.
17. Baksaas ST, Flom-Halvorsen HI, Ovrum E, Videm V, Mollnes TE, Brosstad F, et al. Leucocyte filtration during cardiopulmonary reperfusion in coronary artery bypass surgery. *Perfusion* 1999;14:107-17.
18. Wilson IC, Gardner TJ, DiNatale JM, Gillinov AM, Curtis WE, Cameron DE. Temporary leukocyte depletion reduces ventricular dysfunction during prolonged postischemic reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:805-10.
19. Ortolano GA, Aldea GS, Lilly K, O'Gara P, Alkon JD, Mader F, et al. A review of leukofiltration in cardiac surgery: the time course of reperfusion injury may facilitate study design of anti-inflammatory effects. *Perfusion* 2002;17:53-62.
20. Fabbri A, Manfredi J, Piccin C, Soffiati G, Carta MR, Gasparotto E, et al. Systemic leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 2001;16 Suppl:11-8.
21. Fransen E, de Jong D, van Straaten H, Maessen J. Impact of leukocyte depleting filter on inflammatory mediator release

- in patients undergoing cardiac surgery. *Perfusion* 2001;16 (Suppl):86-7.
22. Patel JS, Alexiou C, Sheppard SV, Ohri SK, Livesey SA. The effect of leukocyte depletion on coronary sinus leukocyte count during CPB. *Perfusion* 2001;16 (Suppl):87-8.
 23. Matheis G, Scholz M, Simon A, Henrich D, Wimmer-Greinecker G, Moritz A. Timing of leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 2001;16 Suppl:31-7.
 24. Murai N, Imazeki T, Shioguchi S, Saitou M, Gon S, Yoshida H, et al. Leukocyte-depleted continuous blood cardioplegia for coronary artery bypass grafting. *Jpn Heart J* 2000;41:425-33.
 25. Suzuki I, Ogoshi N, Chiba M, Komatsu T, Moizumi Y. Clinical evaluation of a leukocyte-depleting blood cardioplegia filter (BC1B) for elective open-heart surgery. *Perfusion* 1998;13:205-10.
 26. Hayashi Y, Sawa Y, Nishimura M, Ichikawa H, Kagisaki K, Ohtake S, et al. Clinical evaluation of leukocyte-depleted blood cardioplegia for pediatric open heart operation. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1914-9.
 27. Yamamoto H, Moriyama Y, Hisatomi K, Yotsumoto G, Taira A, Sakata R. A leukocyte depleting filter reduces endothelial cell dysfunction and improves transplanted canine heart function. *J Heart Lung Transplant* 2001;20:670-8.