

T.C.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ A.B.D.

FARKLI YAŞ GRUPLARINDA
LAPAROSKOPİK CERRAHİ VE LAPARATOMİNİN
OLUŞTURDUĞU POSTOPERATİF İMMUN YANITIN
İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tülin ÖZTAŞ

SAMSUN 2008

T.C.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ A.B.D.

FARKLI YAŞ GRUPLARINDA
LAPAROSKOPİK CERRAHİ VE LAPARATOMİNİN
OLUŞTURDUĞU POSTOPERATİF İMMUN YANITIN
İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tülin ÖZTAŞ

DANIŞMAN

Dr. Rıza RIZALAR

SAMSUN 2008

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
1.İÇİNDEKİLER	I
2.KISALTMALAR	II
3.ŞEKİL LİSTESİ	III
4.TABLO LİSTESİ	IV
5.ÖZET	V
6.ANAHTAR SÖZCÜKLER	VII
7.SUMMARY	VIII
8.KEYWORDS	X
9.GİRİŞ VE AMAÇ	1
10.GENEL BİLGİLER	3
11.GEREÇ VE YÖNTEM	11
12.BULGULAR	16
13.TARTIŞMA	22
14.SONUÇLAR	26
15.KAYNAKLAR	27

2- KISALTMALAR

DTH: Gecikmiř tip hipersensitivite

CD : Clusters of designation

PMN: Polimorfonukleer l3kosit

CRP: C reaktif protein

IL: İnterl3kin

NK: Naturel killer

MHC: Major histocompatibility complex

TCR: T cell receptor

HLA-DR: Human leukocyte antigen

Ig: İmmunglobulin

ASH: Antijen sunan h3cre

Th: T helper

Tc: T- supres3r

3-ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Laparoskopî cihazı

Şekil 2: Laparoskopî aletleri

Şekil 3: Laparoskopik insufflasyon

Şekil 4: Laparotomi sonrasında görüntü.

Şekil 5: Sütçocuğu CD+ lenfosit yüzdeleri

Şekil 6: Sütçocuğu CD+ lenfosit yüzdeleri

Şekil 7: Prepuberte CD+ lenfosit yüzdeleri

Şekil 8: Prepuberte CD+ lenfosit yüzdeleri

Şekil 9: Erişkin grup CD+ lenfosit yüzdeleri

Şekil 10: Erişkin grup CD+ lenfosit yüzdeleri

4-TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Çocuklarda Endoskopinin kullanım alanları .

Tablo 2 : Yaş grupları .

Tablo 3: Laparotomi ve laparoskopi alt grupları .

Tablo 4 : Kullanılan monoklonal antikolar .

Tablo 5 : Negatif kontrol olarak kullanılan izotipik kontroller .

Tablo 6 : Çalışmada kullanılan CD ler .

Tablo 7: Sütçocuğu açık cerrahi

Tablo 8: Sütçocuğu laparoskopi

Tablo 9: Prepuberte açık cerrahi

Tablo 10:Prepuberte laparoskopi

Tablo 11: Erişkin açık cerrahi

Tablo 12: Erişkin laparoskopi

5. ÖZET

Amaç

Laparoskopi, cerrahi prosedürlerin vücuttaki travmayı en aza indirgeyerek yürütülmesini sağlayan cerrahi bir tekniktir. Günümüzde laparoskopik müdahaleler, çocuk cerrahisinde daha fazla yer bulmaya başlamıştır. Her cerrahi müdahale bir travma ve buna bağlı bir stres meydana getirir. Cerrahi stresin, vücutta en fazla etkilediği sistemlerden biri immun sistemdir. Açık cerrahi sonrası, özellikle hücre aracılıklı savunma sisteminde belirgin bir baskılanma olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Laparoskopi, minimal invazif cerrahi özelliğine bağlı olarak daha az cerrahi stres oluşturur. Ayrıca anestezinin oluşturduğu stresi de, ameliyat süresini kısaltarak azaltır.

Bu çalışmada amacımız laparoskopik ve açık cerrahi sonrası farklı yaş gruplarındaki sıçanlarda lenfosit altgruplarındaki değişiklikleri karşılaştırmaktır.

Gereç ve yöntem

Yirmi dört adet Wistar Albino cinsi sıçan, toplam 3 gruba ayrıldı. Her grupta 8 adet sıçan olup, birincisi sütçocuğu sıçan grubu, ikincisi ergenlik öncesi sıçan grubu ve üçüncüsü erişkin sıçan grubudur. Bu grupların her biri kendi arasında iki gruba ayrıldı. Birinci alt gruplar açık cerrahi grubu olup 4 adet sıçandı. İkinci alt gruplar laparoskopi grubu olup 4 adet sıçandı. Açık cerrahide orta hat kesi ile karın içine girilip, barsaklara manüpilasyon yapıldı. Laparoskopik müdahalede, sıçanlara özel cihazlarla karın içi boşluğa karbondioksit (CO₂) gazı verildi. Kan örnekleri bütün sıçanlar için operasyondan 24 saat öncesi ve 1 gün sonrasında kuyruk toplardamarından 2 ml olarak alındı. İmmun cevabın belirlenmesi için lenfosit alt grupları olan, CD4, CD8a ve CD25, CD3-CD4, CD3-CD8a, CD4-CD25, CD4/CD8a seviyeleri bakıldı.

Bulgular

Çalışmada, laparoskopik cerrahi ve laparotominin lenfosit altgruplarında erken dönemde bazı etkileri gözlenmiştir. Ancak yaşa göre lenfosit altgruplarında farklılık saptanmamıştır.

Laparotomi yapılan erişkin grupta aktif T lenfosit düzeyleri açık cerrahi sonrası baskılanırken diğer gruplarda T lenfosit düzeyinde baskılanma saptanmamıştır. (Preop 4,89 postop 1,30) ($p>0,05$)

CD4/CD8a oranı rakamsal olarak tüm gruplarda laparoskopi sonrası laparotomi ye göre rakamsal olarak daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. ($P>0.05$) (Açık cerrahi 1,34, laparoskopi 2,27.)

Tüm yaş gruplarında açık cerrahi sonrası T supresör yüzdesi artmıştı. Laparoskopi gruplarında azalma vardı.

Sonuç

Farklı yaş gruplarında laparoskopi ve laparotomi sonrası lenfosit altgruplarında anlamlı farklılık saptamadık . Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmasa da laparoskopik cerrahi sonrası hiçbir yaş grubunda aktif T lenfosit düzeyinde azalma olmadı. Laparoskopi sonrası tüm gruplarda CD4/CD8a oranı laparotomiye oranla daha yüksekti. Bu da laparoskopik cerrahinin daha az doku travması ve buna bağlı olarak da lenfosit altgrularını daha az etkilediğini düşündürmektedir. Biz laparoskopik cerrahinin kısa süreli hastanede kalış ve erken dönemde iyileşme, post op immun yanıtta daha az etkilenme nedeniyle çocuk yaş grubunda da emniyetle kullanılabilceğini düşünüyoruz.

6.ANAHTAR SÖZCÜKLER

Laparoskopi

Laparotomi

İmmun yanıt

Hücreyel immün yanıt

T lenfosit

Lenfosit altgrupları

SUMMARY

Aim

Laparoscopy is a technique which maintain the operation with less trauma than the open surgical procedures. Nowadays, laparoscopy is favorable among pediatric patients. Any surgical intervention leads to stress. Immune system is one of the most affected systems from trauma and stress. Many studies display that laparotomic surgery depress the cell mediated immunity particularly. Laparoscopic procedure is a minimal invasive technique so it is less traumatic. It has also less length of operation time so it decreases stress related to the anesthesia.

In our study, we aimed to compare the lymphocyte subgroups effects of laparotomic and laparoscopic procedures among the different age groups of rats.

Material and Methods

Twenty four Wistar Albino rats were divided into three groups. First group (n: 8) was newborn-rat group. Second group(n: 8) was prepubertal-rat group. Third group(n: 8) was adult-rat group. Every group was composed of two subgroups; laparotomic (n: 4) and laparoscopic(n: 4). Midline incision was made and intestinal manipulation alone for laparotomic intervention was done. For laparoscopic intervention, carbondioxide (CO₂) was inhaled into peritoneal cavity. Blood samples were gathered 24 hours before and 1 days after interventions from tail veins of rats. Immune responses were analysed by the measurement of lymphocyte subgroups of CD4, CD8a, CD25, CD3-CD4, CD3-CD8a, CD4-CD25, CD4-CD8a.

Results

We found that laparotomic and laparoscopic surgeries have some effects on lymphocyte subgroups at the early period. But there was no lymphocyte subgroups dissimilarity among different age groups. While active T lymphocyte was depressed in laparotomic group of adult rats, this depression was not detected on other age groups ($p>0.05$).

CD4/CD8a was higher in all groups of laparoscopy than laparotomy. But this difference was not significant statistically ($p>0.05$).

In all age group of laparotomy, T supressor cell percentage increased. T suppressor cell percentage was decreased in laparoscopy groups ($p>0.05$).

Conclusion

We did not detect lymphocyte subgroups differences among the different ages in both laparotomic and laparoscopic groups. There was no decrease in active T lymphocyte level in any laparoscopic group but this was not significant statisticaly. CD4/CD8a was higher in laparoscopic group than laparotomic groups so this result suggest that laparoscopy may cause less tissue trauma with less affected lymphocyte subgroups . We think that laparoscopy is appropriate for many surgical procedures in pediatric patients because of its own decreased healing time, less length of hospital stay and less affected immune system.

8. KEYWORDS

Laparoscopy

Laparotomy

Immune response

Cell- mediated immune response

T lymphocytes

Lymphocyt subgroups

9. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde laparoskopik operasyonlar, cerrahi yöntemlerin oldukça önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Bunun sebebi laparoskopinin, açık cerrahiye göre bazı belirgin avantajlarının olmasıdır (1,2). Bu avantajlar arasında en önemlileri daha hızlı yara iyileşimi ve kozmetik, daha az hastanede yatış, normal hayata hızlı dönüş ve buna bağlı maliyet azalması, işgücü kazanımıdır (3,4).

Cerrahi prosedürler hastalarda bir travma ve buna bağlı stres oluşturmaktadır. Daha kısa ameliyat süresi ve ameliyat sonrası ağrının az olması gibi laparoskopik avantajlar doğal olarak oluşan stresin de açık cerrahiye göre azalmasını sağlamaktadır.

Baskılanmış immun yanıt, açık cerrahi müdahaleler sonrası bir çok klinik ve deneysel çalışma ile gösterilmiştir (5,6,7,8,9,10,11). Defans sistemindeki bu baskılanma operasyon sonrası iyileşmede gecikme ve enfeksiyon riskini artırmaktadır. Bu durum operasyon başarısını, mortalite ve morbidite oranını etkilemektedir.

İmmun yanıtın baskılanmasında, cerrahinin ve anestezinin oluşturduğu stres başlıca etkindir (5,12). Laparoskopide stresin düşük olmasının en önemli nedenleri kesi alanın, yapılan manüplasyonların, cerrahi sürenin, anestezi süresinin azalmasıdır.

Oluşan immun cevabın değerlendirilmesi için kullanılan yöntemler arasında sitokinlerin ölçümü ve bunların aracılığıyla oluşan akut faz reaktanlarının ölçümü mevcuttur (13). Bazı araştırmacılar, lenfosit alt gruplarının operasyonlar sonrası baskılandığını göstermişlerdir (5). Benzer şekilde hücre aracılıklı immunitenin laparoskopi sonrası daha iyi korunduğu gösterilmiştir (14).

Ancak bu bulguların potansiyel mekanizmalarının ortaya konması için daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Laparoskopi, günümüzde çocuk cerrahisinde de artan oranda kullanılmaya başlanmıştır. Bu yüzden laparoskopinin, açık cerrahiye göre immun sistem üzerinde oluşturduğu etkiyi araştırmak ayrı bir önem kazanmaktadır. Ancak çocuk yaş grubunda bu araştırmalar yeterince yapılmamıştır. Biz bu amaçla değişik yaş gruplarındaki sıçanlarda laparoskopi ve açık cerrahinin immun cevap yönünden etkilerini lenfosit alt gruplarının serum seviyelerini ölçerek irdelemeyi amaçladık.

Hipotezlerimiz;

Ho hipotezi : Farklı yaş gruplarında laparoskopik cerrahi ve laparatominin oluşturduğu postoperatif immun yanıtta farklılık yoktur.

H1 hipotezi : Farklı yaş gruplarında laparoskopik cerrahi ve laparatominin oluşturduğu postoperatif immun yanıtta farklılık vardır.

10. GENEL BİLGİLER

10.1. Tarihçe:

Laparoskopi, cerrahi prosedürlerin vücuttaki travmayı en aza indirgeyerek yürütülmesini sağlayan cerrahi bir tekniktir. Günümüzde laparoskopik müdahaleler, çocuk cerrahisinde daha fazla yer bulmaya başlamıştır.

Laparoskopinin tarihçesi yaklaşık bir yüzyıl öncesine dayanır. Bu yıllar, hekimlerin karın boşluğuna laparotomi yapmaksızın ulaşma gayretlerinin arttığı yıllardır. Kelling 1901 yılında sistoskop kullanarak köpeklerin karın boşluğuna girmeyi başardı. Daha sonra tekniğini insanlarda da denedi. Kelling, laparoskopinin bugün de kullanılan belirli prensiplerini ortaya koymuştur (15). Aydınlatma ve optik cihazlardaki yetersizlik yüzünden iyi bir görüş alanının sağlanamaması ve definitif işlemlerin yapılamaması gibi nedenler, laparoskopik cerrahiye uzunca bir süre açık cerrahinin gölgesinde bırakmıştır. Teknik alanlardaki ilerlemelere paralel olarak laparoskopi son 30 yıldır yeniden popüler hale geldi.

Laparoskopi çocuklarda 1971 yılından sonra kullanılmaya başlandı. İlk olarak Gans ve Berci bu işlemi güvenilir bir tanı yöntemi olarak uygulamışlardır (16). Çocuklarda ilk torakoskopi uygulamalarına ait kaynağa 1976 yılında rastlanır. Rodgers ve Talhert torakoskopiye plevral ve pulmoner lezyonlarda kullanmışlardır (17). 1991 yılından sonra çocuklarda hem laparoskopik hem torakoskopik cerrahi uygulamalara ilgi giderek artmıştır.

10.2. Laparoskopik Cerrahinin Kullanım Alanları:

Çocuklarda 1970'li yılların başından itibaren önceleri tanı amacıyla kullanılmaya başlanan laparoskopi daha sonraki yıllarda açık cerrahi tekniklere alternatif olabilecek bir düzeye ulaşmıştır (18,19). Çocukların değişik cerrahi patolojileri için tanımlanmış birbirinden farklı birçok laparoskopik uygulamalar vardır.(Tablo 1)

Her geçen gün laparoskopinin uygulama alanları artmaktadır. Bunda laparoskopik cihazların teknik özelliklerinin ileri seviyelere ulaşması etkin rol oynamaktadır Bu ilerlemeler

en çok çocuk hasta grubuna yararlı ve laparoskopik müdahalelerin uygulanmasını sağlamıştır.

Safra kesesi ve safra yolları hastalıkları
Gastroözofagial reflü
Pilor stenozu
Apendisit
İnguinal herni
Hirschsprung hastalığı
Kriptorşidizm
Endometriozis
İnce barsak obstrüksiyonları
Meckel divertikülü
Malrotasyon
Peritoneal diyaliz kateteri takılması veya çıkarılması
İnvaginasyon tanısı ve tedavisi
Gastrostomi tüpü takılması
Özofagus atrezisi
Mediastinal kitle
Ampiyem

Tablo 1: Çocuklarda Endoskopinin kullanım alanları

10.3. Laparoskopik cerrahinin avantajları:

Laparoskopik cerrahinin, klasik açık cerrahiye, özellikle bazı prosedürlerde belirgin üstünlükleri vardır. Günümüzde kolesistektomi gibi operasyonlarda, laparoskopi altın standarttır. Laparoskopik prosedürler genelde daha az doku travması ve daha az operatif stres yapar. Daha iyi kozmetik sonuçları vardır ve pulmoner fonksiyonlara daha az negatif etki eder (20,21,22). Randomize kontrollerde laparoskopik cerrahi sonrası oluşan bu klinik avantajlar açık cerrahi yapılan hastalarda görülmemiştir (23,24). Prospektif randomize bir

çalışmada laparoskopi yapılanlarda konvansiyonel gruptan daha az yorgunluk ve ağrı olduğu gösterilmiştir (25,26). Kısa sürede işe dönüş, kısa süreli hospitalizasyon,postop kısa sürede barsak hareketi gibi avantajları da vardır (27,28,29).

Bütün bu sayılan faktörler laparoskopinin en belirgin avantajlarıdır ve laparoskopinin minimal girişimsel doğasından kaynaklanır.

10.4. Laparoskopik Cerrahinin Dezavantajları

Laparoskopik girişimler komplikasyondan tamamen bağımsız girişimler değildir. Komplikasyonların çoğu laparoskopiyi öğrenim süreci ile ilgili olup, deneyimin artması ile azalmaktadır. Sağlıklı ve genç hastalarda ölüm hızı hemen hemen yok denecek kadar azdır. Veress iğnesi veya trokara bağlı solid ya da içi boş organ ve büyük damar yaralanmaları en ciddi komplikasyonlardır. Büyük damar yaralanmalarında mortalite sıklığı 1/1000 ile 1/2000'dir. Karın duvarında özellikle epigastrik damar yaralanmaları da bildirilmiştir (30).

Trokara bağlı organ zedelenmesi sıklığı da 1:500 ile 3:10.000 arasındadır. Yüksek karın içi basıncı sonucu oluşan gaz embolisi , akciğer kompliyansının azalması, venöz dönüşün düşmesi ve karbondioksit emilimindeki artma sorunlar arasında yer alır (31). Karın içine verilen karbondioksit, irritasyona yol açarak hastaların üçte birinde post-operatif karın ağrısına neden olabilir.

Derinlik hissi olmaması ve dokulara ancak uzun aletler aracılığıyla ulaşılabilmesi, palpasyon ve elle değerlendirme imkanını kısıtlar (32).

10.5. Bağışıklık Sistemi :

Konak savunma mekanizması, enfeksiyonlara karşı ilk koruyucu engeli oluşturan, mikroorganizmaları tanıyıp onları yıkıma uğratmak için doğal olarak organizmada hazır bulunan ‘doğal direnç-doğal bağışıklık ‘ve herhangi bir patojenle karşılaştıktan sonra doğal direnci takiben ortaya çıkan enfeksiyonlara karşı daha etkili savunma sağlayan ‘edinsel direnç- edinsel bağışıklık’’dan oluşmaktadır. Doğal direncin başlıca yapıtaşları epitelyum tabakası, doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), kompleman sistemi, fagositik hücreler ve

sitokinlerdir. Edinsel bağışıklığın yapıtaşları lenfoid organlardır (33). Bunlar ikiye ayrılırlar. Hücrelerin kemik iliğinden çıktıktan sonra olgunlaştığı organlar birincil, immün cevabın oluştuğu organlar ikincil lenfoid organlar olarak adlandırılır. Birincil lenfoid organlar kemik iliği ve timustur. İkincil organlar lenf düğümleri, mukozalara bağılı lenfoid doku ve dalaktır (34,35).

10.5.1. İmmün Yanıt:

Kendi kalıtsal yapısına yabancı molekülleri tanıma yeteneği ile bunlara karşı oluşan bütün reaksiyonlar immün yanıt olarak adlandırılır. Bir patojene karşı özgül immün yanıt, T ve B hücreleri tarafından oluşturulur. MHC-I molekülü taşıyan enfekte antijen sunucu hücre veya aktif inflamatuvar TH1 lenfositler tarafından salınan sitokinler Tc lenfositleri antijene özgül olarak uyarırlar. Böylece **hücreyel tip immün** yanıt oluşur. Aktif TH2 lenfositler tarafından salınan lenfokinlerin uyarısı sonucu antijene özgül B lenfositlerden immünoglobulinlerin sentezlendiği **hümmoral tip immün** yanıt oluşur.

Cerrahi stres sonrası sitokin üretimindeki değışikliklere bağılı hücreyel bağışıklık sistemi fonksiyonlarında baskılanmalar olur. Bu cerrahinin büyüklüğü ile doğru orantılıdır (7). Cerrahinin bağışıklık sisteminde yaptığı bu baskılama sonucu postoperatif lenfosit fonksiyonlarının bozulduğu yönünde araştırmalar mevcuttur (36,37,38,39,40).

10.5.2. Lenfositler:

Lenfositler birincil lenf dokularında oluştuktan sonra ikincil lenfoid dokulara göç ederler. Erişkin insanda ortalama 10^{12} lenfosit bulunur. Lenfositlerin çapı 8-12 μm olup, günde $65 \cdot 10^6$ kadar üretim olmaktadır. Monoklonal antikor çalışmaları ile lenfosit yüzeyinde bulunan reseptör moleküllerinin tanınması mümkün olmuştur. CD (clusters of designation) olarak ifade edilen bu membran reseptörleri immün hücrelerde doğal olarak bulunur (41).

10.5.3. T Lenfositler:

Öncü T hücreleri kemik iliğinden timusa, olgunlaşmak üzere gelirler. Timus korteksine gelen öncü hücreler kısa ömürlüdür. Timus medullasına geçip, burada timus epitel hücre ve

hormonlarının etkisi ile uzun ömürlü olgunlaşmış T hücresine dönüşürler (42). Oluşan bu olgun hücreler yaşamlarının geri kalanını lenf düğümlerinin parakortikal kısmında, dalağın beyaz pulpasında, Peyer plaklarında ve periferik dolaşımında geçirirler. T lenfositler, olgunlaşma sürecinde timusta ileride karşılaşacakları antijenleri tanımları için hücre yüzeyine bağlı glikoprotein yapısında değişik reseptörler kazanırlar. CD sistem ile ifade edilen bu reseptör moleküllerine T lenfosit antijenleri de denir (41,43).

Dolaşımdaki lenfositlerin %80'i T lenfositlerdir. Çoğu T lenfositler CD4 yüzey proteini içerir. (%70). %30 kadar T lenfositleri ise CD8 yüzey proteini taşır. T lenfosit ile B lenfositini birbirinden ayıran en önemli özellik, T lenfositlerinin membranında immünglobulin reseptörü bulunmamasıdır. T lenfositlerin en önemli belirteci, hücre membranında bulunan T hücre reseptörüdür (T cell receptor (TCR)). Antijenin tanınması yardımcı T hücresinin yüzeyindeki bu reseptörlerle ilişkilidir. T hücre aktivasyonu belirli hücre yüzey molekül ekspresyonu, proliferasyon ve sitokin üretimi ile karakterizedir. Fenotipik aktivasyon molekülleri yüksek afiniteli interleukin-2 (IL-2) reseptörü, HLA-DR ve CD38'dir. Bunlara ek olarak CD45RO ekspresyonu bellek lenfositlerini CD45RA taşıyan naif T hücre popülasyonundan ayırır (44,45).

Hücre içi mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonları yok eden edinsel immünitinin hücresel kolunu oluşturan CD4+ Th hücreleri, fagositleri aktive ederek bu fagositlerin veziküllerinde yaşayabilen mikroorganizmaların yok edilmesini sağlarken, CD8+ Tc hücreler sitoplazmasında mikroorganizma içeren hücreleri öldürerek enfeksiyonu yok ederler. CD8+ Tc hücreler enfekte hücre üzerindeki sınıf I MHC ilişkili peptidleri tanırlar ve bu hücreleri öldürerek enfeksiyonun kaynağını yok ederler (46). Tc'ler granül içeriklerinin (perforin, granzimler) hedef hücre membranlarında delikler oluşturarak ve hedef hücrelerde DNA parçalanması ve apoptoza yol açan maddeler aracılığı ile hedef hücrelerini yok ederler (47).

10.5.4. B Lenfositler :

Antikor üreten B hücreleri plazma hücreleri olarak adlandırılır ve B hücre yüzeyinde yer alan Ig'ler B hücre reseptörü (BHR) olarak rol oynar (48). Gelişim esnasında B hücre yüzeyinde ilk olarak hücre içi m zincirleri sonra da IgM görülür. Olgun hücreler IgM'den diğer sınıfların üretimini sağlar, sırasıyla IgM ve IgD, en sonunda IgG, IgA veya IgE ekspresyon edilir ve bu işlem izotip kayma olarak bilinir. Yüzey Ig'nin en son tipi sekrete antikorun sınıfını belirler (49). Bu olgunlaşma dizilimi antikor yanıtının kinetiği ile uyumludur. Birincil yanıtta esas olarak IgM oluşurken, ikincil yanıtta esas olarak IgG antikorları oluşur. İzotip

değişimi 2 önemli proteinin reaksiyonu ile ilişkilidir (50). B hücre yüzeyindeki CD40 molekülü IL-4 etkisinde aktive T hücresindeki CD40L ile reaksiyona girer ve B hücrelerinde IgM'den diğer Ig altgrupların (IgG, IgA, IgE) oluşumunu indükler. T hücre kökenli sitokinler polisakkaridler gibi T hücre bağımsız antijenlere karşı B hücre yanıtını uyarırlar. T, B veya ASH'deki eksiklik, antikor üretiminde eksikliğe neden olabilir. Her bir B hücresi antijen bağlanma bölgesi olarak rol oynayan yüzey Ig'ni eksprese eder. Antijen ve yardımcı T hücrelerinden (IL-4, IL-5, IL-6) salgılanan faktörler B hücre bölünme ve farklılaşmasını stimüle eder ve aynı türden immüoglobülin üreten hücreler oluşur, simultan olarak aynı yüzey Ig reseptörü eksprese olur. Bu hücrelerin bölünmesi sonucunda aynı antijen ile daha sonra karşılaşılması durumunda antijen-spesifik B hücrelerinin sayısı daha da artar. Bu klonal ekspansiyon olarak adlandırılır ve ikincil yanıtı artırır (51,52).

İkincil yanıt daha hızlı ve kuvvetli olduğu için daha etkilidir. Bu antijene yüksek afinite ile bağlanan antikorların üretiminden kaynaklanır. Bu üretimde iki nokta önemlidir. Birincisi, primer yanıtta antijen uzaklaştırıldığında kalan düşük konsantrasyondaki antijen sadece yüksek afiniteli reseptörlere sahip hücrelerle reaksiyona girer. İkinci olarak sekonder yanıtın germinal merkezinde hızlı B hücre bölünmesi ve buna eşlik eden somatik mutasyon yüksek afiniteli B hücrelerini oluşturur ve bu işlem maturasyon - olgunlaşma olarak adlandırılır. Oluşan B hücreleri öncelikle antikor ile kompleks halde bulunan antijene bağlanır ve foliküler dendritik hücreler tarafından bağlanır. B hücrelerinin çok az bir kısmı T hücre bağımsız antijen olarak antijene direkt yanıt verebilir ve IgM antikor yanıtına neden olurlar. Bu maddeler diğer bellek B hücrelerinin non-spesifik proliferasyonunu uyarabilirler ve bu nedenle poliklonal B hücre mitojenleri olarak bilinirler. B hücreleri uygun eşlikçi hücre ile sunulsa bile çoğu antijene direkt olarak yanıt vermez ikinci sinyal B hücresini tetiklemelidir ve bu sinyal genellikle T hücresi tarafından sağlanır. Bu ilk olarak adaptif transfer deneyleri ile gösterilmiştir. B hücresinin ve antijenin irradiye hayvana transferinde antikor yanıtı saptanmamıştır. T hücrelerinin eklenmesi, antikor yanıtına neden olmakla birlikte sadece T hücreleri antikor oluşturma yeteneğinde olmadığından, antikor yapımında B hücrelerine ek olarak Th hücrelerine gereksinim vardır (49,53).

10.6. Laparoskopinin Bağışıklık Sistemine Etkileri

Cerrahi ve buna bağlı stresin bağışıklık sistemi üzerine çeşitli etkileri vardır (54, 55). Cerrahi girişimler değişken ve geçici bağışıklık sistemi baskılanması yapmaktadır. Bu etkiler yalnız sitokinler üzerinde değil, hücresel sistemik immün cevap üzerinde de olur. Ayrıca değişiklikler basit bir şekilde nötrofil yanıtı olabileceği gibi, özel olarak hücresel aracılıklı veya humoral immüniteyi içerecek şekilde de olabilir (56,10). Bu immünolojik yanıt ve etkilenmelerin büyüklüğü stressin şiddetiyle orantılıdır (6,13). Son dönemde laparoskopik cerrahi girişimlerin hastanın bağışıklık sistemini koruduğu yönündeki yayınlar artmıştır (57,58). Bu çalışmalardan gelen ipuçları laparoskopik yaklaşımın bağışıklık sistemi baskılanmasını azalttığı yönündeydi (59, 8). Nötrofil esteraz, nötrofil aktivasyonu sırasında oluşan bir enzim olup, Gal ve arkadaşları kolesistektomi yapılan hastalarda nötrofil esterazın laparotomi ve laparoskopi gruplarında benzer şekilde arttığını ancak laparoskopi hastalarında operasyon sonrası 3'üncü günde normale dönerken, laparotomi grubunda yüksek seviyede kaldıklarını gözlemlediler (60,61).

Lenfosit sayısı spesifik immün yanıt için önemli bir kriter olup lenfosit alt gruplarının cerrahi sonrası baskılandığı da bilinen bir gerçektir (5). Laparoskopik cerrahinin bu alt grup hücre sayılarındaki azalışı engelleyebileceği üzerinde durulmaktadır. Yapılan bir çalışmada laparoskopik kolesistektomi sonrası, laparotomiye göre T lenfosit ve natürel killer hücre sayısının daha az baskılandığı gösterildi (62). Yine bazı çalışmalarda azalan HLA-DR ekspresyonu laparoskopi sonrası daha hızlı bir şekilde normale dönmektedir (8,63). Brune ve Sietses tarafından yapılan araştırmalarda bu sonucu desteklemektedir (57,64). Onlarda hem laparotomide hem de laparoskopide HLA-DR ekspresyonunun azaldığını ama operasyon sonrası laparoskopi grubunda normale dönüşün daha hızlı olduğunu gözlemlediler.

Geçikmiş tip hipersensitivite reaksiyonu T hücresi fonksiyonu ile ilişkilidir. Bu yanıt karmaşık bir süreç olup hem lenfosit hemde lenfosit alt grupları bu süreçte görev alır. Laparotomi sonrası geçikmiş tip hipersensitivite reaksiyonu ciddi şekilde baskılanmaktadır (65). Trokel, laparoskopik gaz insuflasyonu ve laparotomi yaptığı hayvan modelinde, geçikmiş tip hipersensitivitenin laparotomi grubunda önemli derecede baskılandığını tespit etti (66).

Carey laparoskopinin nötrofil aktivasyonu üzerine etkilerini inceledi. Bunun için nötrofillerin en potent antimikrobiyal oksidantı olan hipoklorik asid değerleri ölçüldü (67) Hem laparotomi hem de laparoskopik grupta operasyon öncesi tepe hipoklorik asid ölçümü eşit iken, operasyon sonrası laparotomi grubunda hipoklorik asid üretimi ciddi oranda düştü. Ancak laparoskopi grubunda buna benzer bir düşüş tespit edilmedi. Altı gün sonrasında her iki grupta da hipoklorik asid üretimi normal değerlerindeydi. Peritoneyal lenfosit popülasyonunu çalışan Eyard laparoskopi sonrası bu sayıda azalma tespit etmemiştir (68)

Tüm bu bulgular laparoskopi ile laparotomi arasında immun etkilenme yönünden bir farklılık olabileceğini bildirmekte, ancak küçük yaş gruplarında bu farklılıkların nasıl görüleceği konusunda yeterli çalışma bulunmamaktadır.

11. GEREÇ VE YÖNTEM

11.1. Gereç

Bu deneysel çalışma 2008 yılında Ondokuzmayıs Üniversitesi Cerrahi araştırma merkezinde Çocuk Hematoloji Bilim Dalının katkılarıyla gerçekleştirildi. Çalışmada sekiz adet erişkin (200-240 gram) , sekiz adet prepuberte (190- 114 gram) ve sekiz adet sütçocuğu (50 – 70 gram) olmak üzere toplam yirmidört adet Wistar Albino cinsi sağlıklı dişi sıçan kullanıldı.

11.2. Yöntem ve gruplar

Operasyona yedi gün öncesinden dahil edilen sıçanların ağırlıkları kaydedildi ve sıçanlar normal oda sıcaklığı ve nemine sahip ortama konuldular.

Tüm sıçanların operasyon öncesi eter ile sedasyonu sağlandı. Kuyruk veninden 0,5 ml kan örneği alındı ve serum CD3-CD4, CD3-CD8a, CD4-CD25 birlikteleri, CD4+, CD8a+, CD25+ lenfosit ölçümü için saklandı.

Denekler operasyondan oniki saat önce aç bırakıldılar. Anestezi için gruplara uygun olarak 2-5 mg/kg dozunda intramüsküler (IM) Ketamine Hydrochloride kullanıldı.

Her sıçana operasyon öncesi profilaktik amaçlı grubuna uygun olarak (5-15 mg/kg) IM seftriakson uygulandı.

Denekler özel olarak hazırlanmış bir masaya supin pozisyonunda yerleştirilerek tespitlendi. Batın traşlandı ve povidon iyodür ile temizlendi. Laparotomi orta hat 2 cm'lik kesi ile gerçekleştirildi.

Laparoskopi için pubis ile ksifoid proçes arasındaki uzaklığın yarısına (1/2) Veress iğnesi girildi. 7 mmHg basınçla pnömoperitoneum oluşturuldu ve Veress iğnesi çıkarıldı. Ardından 3 mm'lik torokar yerleştirildi. Trokarın içerisinden 30 derecelik artroskop

ilerletildi. Bu esnada CO2 tekrar verildi. 10 mmHg basınçta batın içerisi gözlemlendi. CO2 gazı geri alınarak işleme son verildi.

Operasyon sonrası 1. gün 0,5 ml kan örneği alındı. CD4+, CD8a+, CD3-CD4, CD3-CD8a, CD4-CD25, CD25+ lenfosit seviyelerinin tespiti için laboratuvara gönderildi.

Sıçanlar yaşlarına göre 3 gruba ayrıldı. Daha sonra her bir grup kendi arasında laparoskopi ve laparotomi grubu olarak iki alt kısma bölündü. (Tablo 2 ve 3)

Grup 1	S=8	Süt çocuğu
Grup 2	S=8	Prepuberte
Grup 3	S=8	Erişkin

Tablo 2 : Yaş grupları

Grup 1	Grup 1A s=4	Laparotomi
	Grup 1B s=4	Laparoskopi
Grup 2	Grup 2A s=4	Laparotomi
	Grup 2B s=4	Laparoskopi
Grup 3	Grup 3A s=4	Laparotomi
	Grup 3B s=4	Laparoskopi

Tablo 3: Laparotomi ve laparoskopi alt grupları

Operasyon öncesi tüm sıçanlardan 0,5 ml kan alındı. Lenfosit alt grupları ve lökosit sayısı incelenmek üzere laboratuvara gönderildi.

Laparotomi Grupları (A) :

Orta hat kesi ile tanısal amaçlı laparotomi yapıldı. Karın içerisine girilerek organların sağlığı kontrol edildi. Kesi kapatıldı. Operasyondan 24 saat sonra 0,5ml kan alındı.

Laparoskopi Grupları (B) :

Batın içerisine CO2 gazı verilerek laparoskopi işlemi yapıldı. Tanısal amaçlı pelvis ve batın içerisi gözlemlendi. 24 saat sonra tüm sıçanlardan 0,5 ml kan alındı.



şekil 1: Laparoskopi cihazı



şekil 2: Laparoskopi aletleri



şekil 3: Laparoskopik insufflasyon



şekil 4: Laparotomi sonrası

11.2.1. Flowsitometri ile hücresel immünite markerlerinin tesbiti

İnsan periferik kan hücrelerinin tanımlanmasında monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. Her hücre yüzeyinde farklı antijenik yapılar taşımaktadır. Bu antijenlere spesifik floresanla işaretli monoklonal antikorlar kullanılarak antijenik yapılar saptanıp tiplendirilmesi yapılır. Hücre popülasyonunun büyüklük ve granülaritesi de farklıdır. Bu özellikler hücre süspansiyonunda farklı hücre popülasyonlarının belirlenmesinde kullanılır. Belirli büyüklük ve granülaritedeki hücre popülasyonunun sınırları belirlendikten sonra bu alandaki hücrelerin detaylı analizlerinin yapılması olanaklıdır. Elde edilen bilgiler histogramlar veya ‘‘dote blot’’ halinde sunulur.

Operasyon öncesi ve operasyondan 24 saat sonra hayvanlardan EDTA’lı tüpe kan örnekleri alındı. 24 saat içerisinde flowsitometrik incelemeler yapıldı.

11.2.2. Yöntem:

Bu örneklerde hücre büyüklük ve granülaritesine göre lenfositler ayrılarak lenfosit alt grupları çalışıldı. Eş zamanlı olarak beyaz küre sayısı ölçüldü.

Hücre süspansiyonunda beyaz küre sayısı mikrolitrede 30 000 olacak şekilde ayarlandı. Bu hücre süspansiyonlarından 100 mikrolitre alınarak 20 mikrolitre uygun monoklonal antikorla karıştırıldı.

Anti –CD3 +Tcell FITC (Becton Dickinson)
Anti -CD4+Tcell PE
Anti –CD8a +Tcell PE
Anti –CD25 +Tcell FITC
Anti -CD45 +Tcell FITC

Tablo 4 : Kullanılan monoklonal antikorlar .

PE için Mouse (BALB/C) IgG1K tipinde
FITC için Mouse (BALB/C) IgG1K tipinde

Tablo 5 : Negatif kontrol olarak kullanılan izotipik kontroller .

Uygun monoklonal antikörlerin eklenmiş olduğu hücre süspansiyonları 15-30 dakika karanlıkta inkübe edildi. Daha sonra 1,5 ml lyse eklenerek lizise uğrayan eritrositler yıkandı ve ortamdan uzaklaştırıldı.

Bu şekilde hazırlanan hücre süspansiyonları FACS (Fluorescence –activated cell sorter) (Becton Dickinson San Jose,CA, USA) aracılığıyla analiz edildiler.

Kullanılan izotip kontrollere dayanarak çizilen kadrarlarda bu antijenik yapılar kantite edilmeye çalışıldı.

CD3	Tüm T lenfosit
CD4,CD25	Aktive T lenfosit
CD3,CD4	Helper T lenfosit
CD3,CD8a	Sitotoksik veya supressör T lenfosit

Tablo 6 : Çalışmada kullanılan CD ler

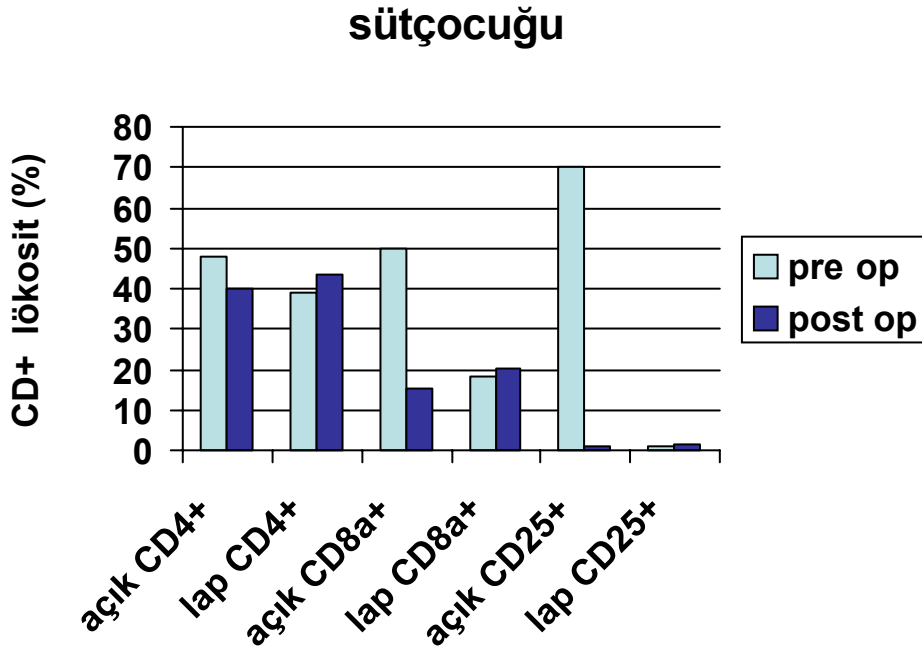
11.3. İstatistiksel Yöntem:

Normalite analizi sonrası normal dağılım gösteren gruplarda varyans analizi ve ikili karşılaştırmalar için eşleşmiş t-testi uygulandı. Normal dağılım göstermeyen gruplarda Kruskal-Wallis varyans analizi ve grupların karşılaştırılmasında Wilcoxon testi uygulandı.

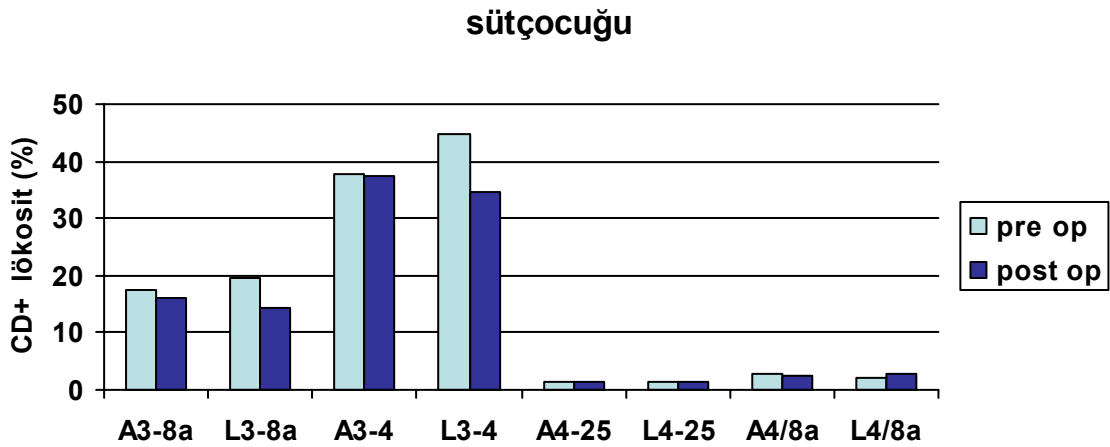
12. BULGULAR :

Çalışmaya üç grup halinde toplam 24 adet sıçan alındı. Her grup iki alt gruba ayrıldı. Farklı yaş gruplarında laparotomi ve laparoskopi yapılarak postoperatif immun yanıtı incelendi.

Bu immun yanıt için T lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesi yapıldı. T lenfosit alt grupları olarak CD4, CD8a, CD25, CD3-CD8a, CD3-CD4, CD4-CD25 incelendi. Bu sonuçlar sütçocuğu, prepuberte, erişkin gruplarında tablo ve grafik halinde ortaya kondu.



Şekil 5: Süt çocuğu grubu CD+ lenfosit yüzdeleri.



Şekil 6: Süt çocuğu grubu CD+ lenfosit yüzdeleri.

	PREOP	POSTOP	P
CD4	40,12	39,15	>0,05
CD8a	15,22	18,13	>0,05
CD25	0,83	0,90	>0,05
CD3- CD4	37,71	37,43	>0,05
CD3-CD8a	17,45	16,12	>0,05
CD4-CD25	1,40	1,47	>0,05
CD4/CD8a	2,90	2,28	>0,05

Tablo 7: Sütçocuğu açık cerrahi

	PREOP	POSTOP	P
CD4	43,68	35,27	>0,05
CD8a	20,09	15,40	>0,05
CD25	1,24	1,46	>0,05
CD3- CD4	44,69	34,69	>0,05
CD3-CD8a	19,53	14,29	>0,05
CD4-CD25	1,36	1,23	>0,05
CD4/CD8a	2,27	2,67	>0,05

Tablo 8: Sütçocuğu laparoskopisi

Bu grupta açık cerrahi sonrasında CD4, CD3-CD4 değerleri preop değerlerinden farklı değildi. (Tablo 7). Laparoskopisi sonrasında CD4,CD3-CD4 değerleri azaldı. (Tablo 8).

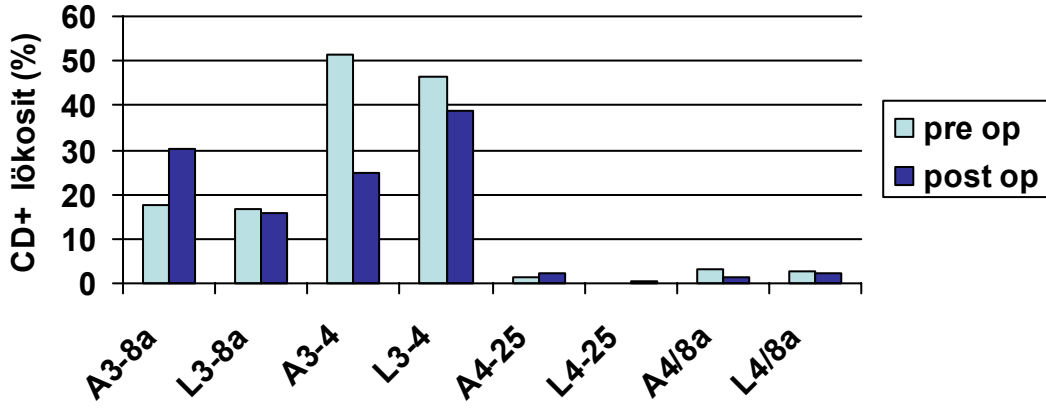
($p>0,05$) Açık cerrahi işlem sonrası bu grupta CD8a, CD3-CD8a değerleri arttı(Tablo 7).

($p>0,05$) Laparoskopisi sonrası bu değerler azaldı. (Tablo 8).($p>0,05$)

Bu yaş grubunda CD25,CD4-CD25 değerleri açık ve laparoskopik cerrahi sonrası preop değerlerinden farklı değildi.

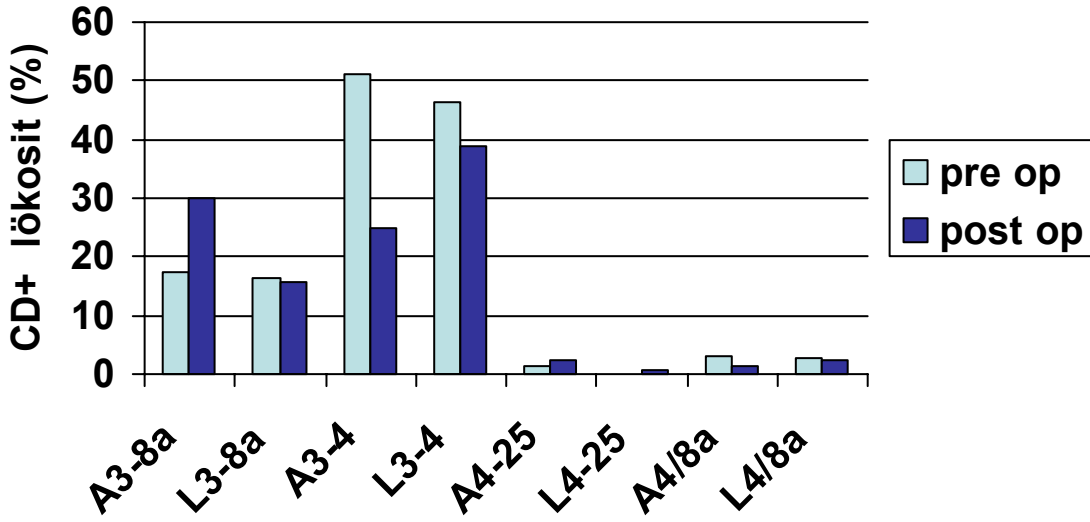
CD4/ CD8 oranı açık cerrahi sonrası azaldı (Tablo 7) ($p>0,05$) , laparoskopisi sonrasında arttı (Tablo 8) ($p>0,05$).

prepuberte



Şekil 7: Prepuberte CD+ lenfosit yüzdeleri.

prepuberte



Şekil 8: Prepuberte CD+ lenfosit yüzdeleri.

	PREOP	POSTOP	P
CD4	48,29	34,93	>0,05
CD8a	22,38	26,76	>0,05
CD25	0,80	0,54	>0,05
CD3- CD4	51,25	24,77	>0,05
CD3-CD8a	17,37	30,09	>0,05
CD4-CD25	1,36	2,33	>0,05
CD4/CD8a	2,95	1,35	>0,05

Tablo 9: Prepuberte açık cerrahi

	PREOP	POSTOP	P
CD4	49,97	40,70	>0,05
CD8a	19,45	17,93	>0,05
CD25	0,18	0,46	>0,05
CD3-CD4	46,35	38,85	>0,05
CD3-CD8a	16,51	15,57	>0,05
CD4-CD25	0,12	0,67	>0,05
CD4/CD8a	2,69	2,27	>0,05

Tablo 10:Prepuberte laparoskopisi

Bu grupta açık cerrahi sonrasında CD4, CD3-CD4 değerleri azalmıştı (Tablo 9). ($p>0,05$)

Laparoskopisi sonrasında CD4, CD3-CD4 değerleri azalmıştı. (Tablo 10). ($p>0,05$)

Açık cerrahi işlem sonrası bu grupta CD8a değeri azaldı, CD3-CD8a değerleri arttı(Tablo 9). ($p>0,05$)

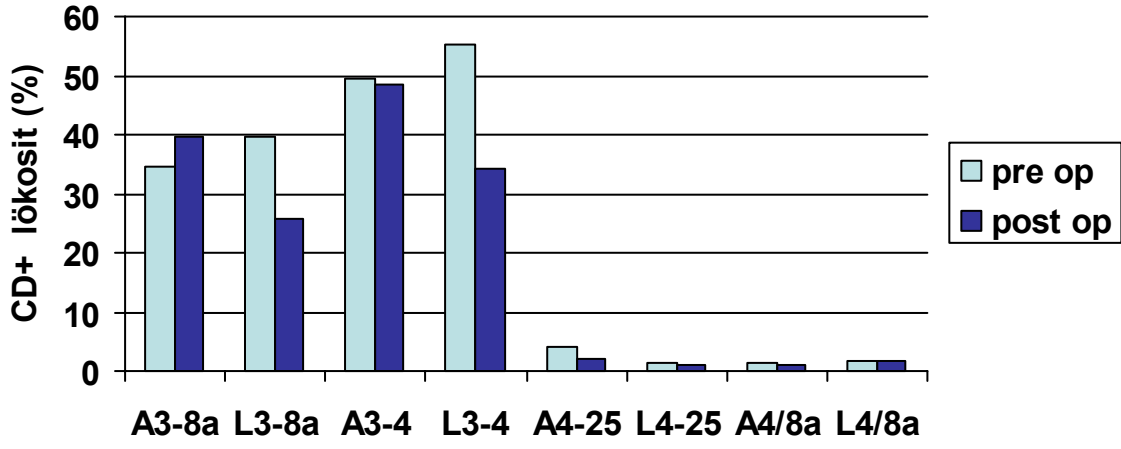
Laparoskopisi sonrası bu değerler azaldı. (Tablo 10).($p>0,05$)

Bu yaş grubunda CD25 değeri açık cerrahi sonrası azaldı, CD4-CD25 değerleri açık cerrahi sonrası arttı (Tablo 9).($p>0,05$) Ancak bu değerler normalite analizine uygun değildi.

Laparoskopik cerrahi sonrası CD25,CD4-CD25 değerleri arttı. (Tablo 10).($p>0,05$)

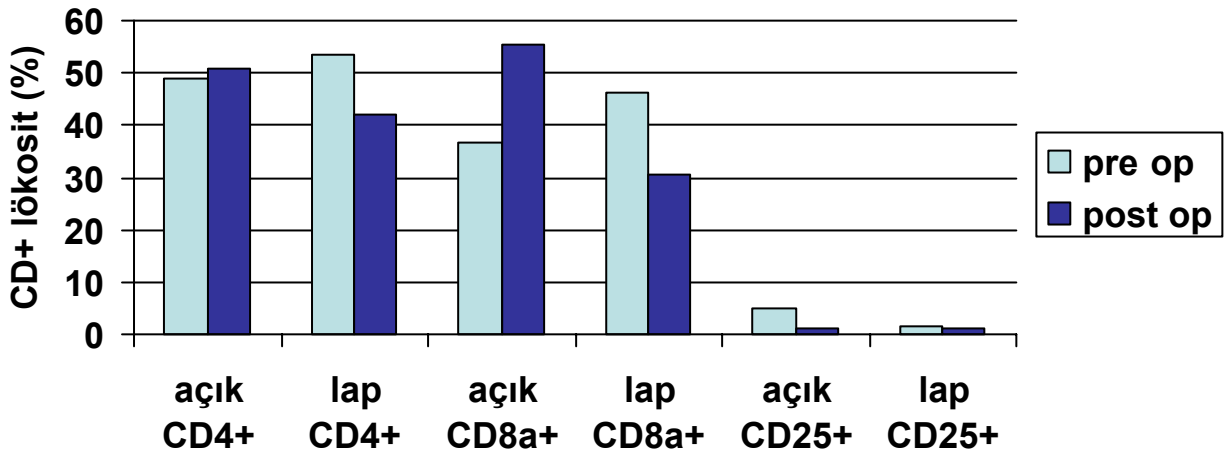
CD4/ CD8 oranı açık cerrahi sonrası azaldı (Tablo 9) ($p>0,05$) , laparoskopisi sonrasında bu oran da çok az bir düşüş vardı. (Tablo 10) ($p>0,05$).

erişkin



Şekil 9: Erişkin CD+ lenfosit yüzdeleri.

erişkin



Şekil 10: Erişkin CD+ lenfosit yüzdeleri.

	PREOP	POSTOP	P
CD4	49,08	50,76	>0,05
CD8a	36,83	55,40	>0,05
CD25	4,89	1,30	>0,05
CD3- CD4	49,46	48,31	>0,05
CD3-CD8a	34,55	39,73	>0,05
CD4-CD25	4,00	1,99	>0,05
CD4/CD8a	1,39	1,05	>0,05

Tablo 11: Erişkin açık cerrahi

	PREOP	POSTOP	P
CD4	53,50	55,40	>0,05
CD8a	46,41	30,50	>0,05
CD25	1,58	1,28	>0,05
CD3- CD4	55,33	34,38	>0,05
CD3-CD8a	39,70	25,91	>0,05
CD4-CD25	1,39	0,93	>0,05
CD4/CD8a	1,62	1,68	>0,05

Tablo 12: Erişkin laparoskopisi

Bu grupta açık cerrahi sonrasında CD4, CD3-CD4 değerleri değişmedi. (Tablo 11). (p>0,05)

Laparoskopisi sonrasında CD4, CD3-CD4 değerleri azaldı. (Tablo 12). (p>0,05)

Açık cerrahi işlem sonrası bu grupta CD8a, CD3-CD8a değerleri arttı(Tablo 11). (p>0,05)

Laparoskopisi sonrası bu değerler azaldı. (Tablo 12).(p>0,05)

Bu yaş grubunda CD25 , CD4-CD25 değeri açık cerrahi sonrası azaldı (Tablo 11).(p>0,05)

Laparoskopik cerrahi sonrası CD25,CD4-CD25 değerleri azaldı. (Tablo 12).(p>0,05)

CD4/ CD8a oranı açık cerrahi sonrası azaldı (Tablo 11) (p>0,05) , laparoskopisi sonrasında bu oran da artma vardı. (Tablo 10) (p>0,05).

14. SONUÇLAR:

1. Farklı yaş gruplarında laparoskopi ve açık cerrahi sonrasında (preoperatif kan örnekleri ve operasyondan 24 saat sonra alınan kan örneklerinde T lenfosit subsetleri) immün yanıtta bazı değişiklikler olmaktadır.

2. Tüm yaş gruplarında; açık cerrahi sonrası, ameliyat öncesine göre, T helper oranında anlamlı değişiklik saptanmadı. Laparoskopi sonrası T helper değerinde azalma saptandı. Tüm yaş gruplarında laparotomi ve laaroskpi sonrası T helper oranında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı.

3. Her üç yaş grubunda da, açık cerrahi sonrası, ameliyat öncesine göre, T supresör oranı arttı.Laparoskopi yapılan gruplarda T supresör oranında azalma saptandı. Tüm yaş gruplarında T supresör değerlerinde anlamlı farklılık saptanmadı.

4. Erişkin grupta açık cerrahi sonrası, ameliyat öncesine göre, aktif T lenfositler sayısal olarak baskılanmıştı. Erişkin ratlarda laparoskopik cerrahi sonrası, ameliyat öncesine göre, aktif T lenfosit düzeyleri etkilenmemişti.

Sütçocuğu ve prepuberte gruplarında, hem laparotomi hem laparoskopi sonrası, ameliyat öncesine göre, aktif T lenfosit düzeylerinde etkilenme saptanmadı

5. Bizim bulgularımıza göre, istatistiksel olarak farklılık bulunmasa da, Th/Ts oranında ameliyat öncesine göre açık cerrahi sonrasında sayısal olarak azalma vardı, ancak laparoskopi grubunda değişiklik yoktu.

Bu da laparoskopik cerrahinin daha az doku travması yaptığını ve bu travmanın boyutuyla orantılı olarak da lenfosit altgruplarını, daha az etkilendiğini düşündürmektedir.

6. Lenfosit altgrupları ölçümleri postoperatif erken dönemde yapılmıştır ve farklı yaş gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır

13. TARTIŞMA:

Günümüzde erken dönemde hastaların normal aktivitelerine dönmesi, postoperatif dönemde daha az ağrı hissetmeleri ve hızla iyileşmeleri nedeniyle laparoskopik cerrahinin kullanımı giderek artmaktadır (1).

Çocuk yaş grubunda da laparoskopi son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Laparoskopi ve laparatominin oluşturduğu postoperatif immün yanıtta farklılıklar bir çok çalışmada incelenmiştir. Ancak güncel literatürde değişik yaş gruplarında yapılan laparotomi ve laparoskopinin oluşturduğu immün yanıtta farklılıkları gösteren bir çalışma yapılmamıştır.

Sadece anestezi indüksiyonu ya da operasyonla kombine olduğunda özellikle sellüler ve humoral immunitede olmak üzere postop 6- 9 gün süren geçici bir immünyüpresyona neden olduğu bilinir (64, 9,69,70, 56,10). Bu immün süpresyonun son hedefi de sellüler immunitedir (71,72,56,73).

Laparoskopik cerrahi ve açık cerrahiden sonra lenfosit subsetlerindeki veriler çelişkilidir. Çoğu randomize çalışma NK, Bcell, CD4+, CD8+ T hücreleri ile ilgili farklılık bulunmamıştır (74). Bir çok araştırmacı cerrahi stresi takiben T hücre fonksiyonlarında azalma bildirmiştir. (75,76). Kasa ve ark, Ogawa ve ark cerrahiden hemen sonra T hepler, T sitotoksik , NK, IL-2 sayılarının azaldığını göstermişlerdir (77,78). Ama laparoskopik cerrahi sonrası açık cerrahiye kıyasla lenfosit sayılarının erkenden normalizasyonunda bir artış dökümante edilmiştir (63).

Bizim çalışmamızda farklı yaş gruplarında laparotomi ve laparoskopi sonrasında preoperatif değerleri ile kıyasladığımızda CD4 değerlerinde bir farklılık bulmadık. CD3-CD4 birlikteliklerine bakıldığında da, ameliyat öncesine göre anlamlı değişiklik saptamadık. Yapılan bazı çalışmalarda da CD4 ve CD8 ile ifade edilen lenfosit alt gruplarının laparoskopik ve açık cerrahi sonrası değerlerinde değişiklik olmadığı görülmüştür (79). Pertilla ve ark yaptığı prospektif klinik bir çalışmada laparoskopik ve açık cerrahi yöntemle yapılan Nissen fundoplikasyonlu hastalarda lenfosit subsetlerini incelemişlerdir. Her iki grup

arasında farklılık saptanmamış ve her iki grupta da CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin azaldığını görmüşlerdir (80). Bizim çalışmamızda laparoskopi yaptığımız her üç grupta da postoperatif CD3- CD4 değerleri preoperatif dönemden daha düşüktü. Kotano ve ark cerrahi sonrası T lenfosit sayısındaki azalmanın özellikle CD3 ve CD4 sayılarındaki azalmaya bağlı olduğunu belirtmişlerdir (81). Cerrahi işlem sonrası T helper oranında bazı değişiklikler oluşmaktadır. Küçük yaş gruplarında laparoskopik cerrahi laparatomiden fazla bir stres oluşturmakta ve buna bağlı olarakda rakamsal düzeyde de olsa T helper oranında azalmaya neden olmaktadır.

Çalışmamızda preoperatif ve postoperatif dönemde periferik kanda CD8 değerlerini açık ve laparoskopi cerrahi yaptığımız gruplarda karşılaştırdık. Her iki grup arasında farklılık bulmadık. Yapılan bir çalışmada lenfosit alt grupları olan CD4 ve CD8 için operasyon öncesi ve sonrası değerlerde, laparotomi ve laparoskopik gruplar için bir farklılık bulunmamıştır . Geniş serilerde Tang ve ark, 161 kolonik rezeksiyon yapılan hastada iki operatif süreç arasında lenfosit subsetlerinde herhangi bir farklılık bulamamışlardır. Ancak araştırmalar postop 3.günde sadece bir kez yapılmıştır (82). Bu duruma benzer olarak Walker ve ark CD4 hücre sayısında farklılık bulamazken, CD8'de değişiklikler tespit etmiştir. Postop 1.gün anlamlı değişiklik olduğunu göstermişlerdir (83). Dionigi ve ark. laparoskopik ve laparotomi ile kolsistektomi sonrası CD3 değerlerinde farklılıklar bulurken CD4 ve CD8 seviyelerinde fark tespit etmemiştir (84).Yapılan bazı çalışmalarda açık cerrahi sonrası periferik kanda T helper hücre yüzdesinde relatif düşüş ve T-supresör de relatif artış raporlanmıştır (75). Bir başka çalışmada CD4 ve CD8 ile ifade edilen lenfosit subpopulasyonlarının sayılarında laparoskopik ve açık cerrahi yaklaşımda postop değişiklik olmadığı görülmüştür (79). Bizim çalışmamızda da benzer bulgular vardır. Laparoskopi yaptığımız gruplarda postop dönemde T supresör değerlerinde sayısal azalma vardı. Açık cerrahi yaptığımız tüm gruplarda preoperatif dönemle kıyaslandığında postop CD8 değerleri artmıştı. T supresör değerindeki bu artış açık cerrahi sonrasında oluşacak immun yanıtın baskılanabileceğini düşündürüyor. Laparoskopi sonrasında artmış olan T supresör değerleri de immun yanıtın aktive olduğunu düşündürüyor. Bu aktivasyonun sonucu olarak da laparoskopik cerrahi sonrası kısa sürede iyileşme, günlük aktivitelere dönüşte rol oynayabileceğini düşünüyoruz.

Laparoskopi ve laparotomi sonrasında CD25 değerleri ve CD4-CD25 oranlarında ameliyat öncesi ile ameliyat sonrasında farklılık saptamadık. Yapılan çalışmalar; laparoskopik prosedürlerin açık prosedürden daha az immunsupresyon yaptığını düşündürmektedir (62,85,66,86). Laparoskopik cerrahi sonrası daha iyi sonuçların laparoskopik yaklaşımda

modifiye bir immunolojik yanıtla ilişkili olabileceği varsayılmıştır (55,8) .Griffith ve ark, insanlarda açık kolesistektomi ve laparoskopinin post op immunolojik etkilerini kıyaslamışlardır ve benzer bulgular raporlamışlardır (72). Açık grup ile laparoskopik grup kıyaslandığında T lenfosit proliferasyonun anlamlı olarak daha az deprese olduğu görülmüştür.

Bizim çalışmamız da erişkin dönemde açık cerrahi sonrası daha fazla olmak üzere iki işlem sonrasında da CD4-CD25 değerleri azalmıştı. Biz daha büyük yaş grubunda daha geniş doku kesisinin bir sonucu olarak açık cerrahi sonrası laparoskopiden daha fazla stres oluşturduğunu düşünüyoruz . Bu strese bağlı olarak da aktif T lenfosit oranında azalma oluşmuştur. Birçok çalışmada laparoskopi ve açık cerrahi kıyaslandığında laparoskopinin postoperatif stres yanıtını azalttığı gösterilmiştir (72,87). Lennard ve ark, yaptıkları bir çalışmada cerrahi travmanın şiddeti ile postop immun supresyonu korele bulmuşlardır (64,6). Sıçan modelinde laparoskopik prosedürün geleneksel operatif yöntemlere kıyasla hücrel immunitiyi koruduğu yakın zamanda gösterilmiştir (85, 88). Ancak bu korumayı yapan mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu değişken immun yanıtta peritoneal kavitenin CO2den çok havaya maruz kalması veya doku travmasının büyüklüğündeki farklılıkların katkıda bulunabileceği hipotezlenmiştir (14). Bizim çalışmamızda bu bulguları desteklemektedir.

Çalışmamızda tüm yaş gruplarında açık cerrahi ve laparoskopik cerrahi sonrası Th/Ts oranında farklılık bulmadık. Vallina ve Valesco laparoskopik kolesistektomi yapılan 11 hastada periferik lenfosit subpopulasyonunu incelemişlerdir. Postop ilk günde Th/Ts oranının preop seviyelerinin %13 ünden daha aşağıya düştüğünü göstermişlerdir. 1 hafta sonra T lenfosit populasyonu preop seviyelerine döndüğü için anlamlı farklılık olmamıştır. Yazarlar absolu CD4 ve CD8 hücre sayılarında istatistiksel farklılık bulmamışlardır (86). Yalnız anestezi verilmesiyle kıyaslandığında herhangi bir operasyondan sonra CD4/CD8 oranında önemli değişiklikler olur. Bu durum artmış CD4 ve azalmış CD8 oranları ile açıklanabilir (89). Bu bulgular hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Operasyondan kısa süre sonra sirkulasyondaki CD4+ T hücrelerinde azalma oluşur ve böyle CD8+ sitotoksik/süpressör T hücreleri arasındaki denge bozulmaktadır. CD4 /CD8 oranında düşmenin cerrahi travmanın derecesini yansıttığını düşünülmektedir (5).

Laparoskopik kolorektal rezeksiyon yapılan ve açık cerrahi yöntemle kolorektal rezeksiyon yapılan hastalar karşılaştırıldığında T hücre yanıtı bakımından yapılan cerrahi prosedürler

arasında önemli bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Ama laparoskopi yardımcı kolorektal rezeksiyon yapılanlarda işlem sonrası CD4/CD8 oranı geleneksel rezeksiyon yapılanlardan belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur (90). Randomize bir klinik çalışmada Liang ve ark aynı bulgular doğrulanmıştır (91). Nitekim bizim çalışmamızda da her üç grupta da açık cerrahi sonrası rakamsal olarak CD4/CD8 oranı azalmıştı. Laparoskopi grubunda ise azalma saptamadık. Laparoskopik işlem sonrası daha az doku travması olduğunu ve bu travmanın büyüklüğü ile orantılı olarak da lenfosit altgruplarında daha az etkilenme olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışma sonucunda laparotomi ve laparoskopik cerrahi sonrasında T hücre aracılı immun yanıtta yaşa göre erken dönemde istatistiksel anlamlı farklılık bulmadık. Biz yalnızca sellüler immun yanıtın lenfosit altgruplarını erken dönemde irdeledik. Periton boşluğunun hava ile direk teması, daha az manipülasyon, daha kısa süreli anestezi ve daha kısa süreli operasyon postoperatif dönemde sistemik immun aktivasyondaki değişikliklerde kritik rolü oynayabilir. Hücrel immun yanıtındaki bu korunmanında operasyon sonrası erken dönemde normal aktiviteye dönüş ve kısa sürede hastaneden çıkışa etkisi olduğunu düşünüyoruz. Laparoskopinin, açık cerrahiye oranla daha az cerrahi travma yarattığını düşünmekteyiz. Laparoskopik cerrahi yaş ayrımı yapılmaksızın çocukluk döneminde de yaygın ve güvenilir olarak kullanılacaktır. Geç dönemde hücrel immun yanıt, immun yanıtın normalizasyon süresi, humoral immun yanıt, sitokin seviyelerinin ölçümü gibi immun yanıtın diğer komponentleri de göz önünde bulundurularak yapılacak çalışmalarla hastanede kısa süreli kalış ve erken iyileşmenin nedeninin daha anlaşılabilir olacağına inanıyoruz. Çocuklardaki minimal invaziv cerrahinin olası yarar ve riskleri belirlenerek çocuklarımızın daha az tehlikeli cerrahi geçirmeleri sağlanabilecektir.

15. KAYNAKLAR

1. Baxter JN, O'Dwyer PJ. Pathophysiology of laparoscopy. *Br J Surg* 1995;82: 1-2
2. Gupta A, Watson DI. Effect of laparoscopy on immune function. *Br J Surg*. 2001 Oct;88(10): 1296-306. Review
3. Besedovsky HO, Del Rey A, Klusman I, Furukawa H, Monge Arditi G, Kabiersch A. Cytokines as modulators of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991;40:613-8.
4. Gaillard RC. Neuroendocrine-immune system interactions: the immune-hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Trends Endocrinol Metab* 1994;5:303-9.
5. Lennard TWJ, Shenton BK, Borzotta A, Donnelly PK, White M, Gerrie LM, et al. The influence of surgical operations on components of the human immune system. *Br J Surg* 1985;72:771-6
6. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJG, Van Damme J, Shenkin A (1990) Response in serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying intensity. *Clin Sci* 79: 161-165
7. Allendorf JD, Besler M, Whelan RL et al. Postoperative immune function varies inversely with the degree of surgical trauma in a murine model. *Surgical Endoscopy* 1997;11:427-430
8. Redmond HP, Watson RW, Houghton T, Condon C, Watson RG, Bouchier Hayes D (1994) Immune function in patients undergoing open vs laparoscopic cholecystectomy. *Arch Surg* 129:1240-1246
9. Fornara P, Doehn C, Seyfarth M, Jochem D. Why is urological laparoscopy minimally invasive? *Eur Urol* 2000;37:241-50
10. Slade MS, Simmons RL, Yunis E, Greenberg LJ. Immunodepression after major surgery in normal patients. *Surgery* 1975;78:363-372
11. Van Dijk WC, Verbrugh HA, van Rijswijk RE, Vos A, Verhoef J. Neutrophil function, serum opsonic activity, and delayed hypersensitivity in surgical patients. *Surgery* 1982;92:21-9.
12. Faist E, Kupper TS, Baker CC, Chaudry ICH, Dwyer J, Baue AE (1986) Depression of cellular immunity after major injury: its association with posttraumatic complications and its reversal with immunomodulation. *Arch Surg* 121: 1000-1005

13. Corrigan M, Cahil RA, Redmond HP. The immunomodulatory effects of laparoscopic surgery. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2007 Aug 17(4):256-61.
Review
14. Gitzelman CA, Mendoza-Sagaon M, Talamini MA, Ahmad SA, Pegoli W Jr, Paidas CN. Cell-mediated immune response is better preserved by laparoscopy than laparotomy. *S.* 2000 Jan; 127(1):65-71
15. Gans SL: Historical development of pediatric endoscopic surgery. In Halcomb III GW (ed) : *Pediatric Endoscopic Surgery*, Appleton and Lange, Norwalk. 1994, pp1
16. Gans SL, Berci G. Advances in endoscopy of infants and children. *J Pediatr Surg* 6: 199-223, 1971
17. Rodgers BM, Talbert JS. Thoroscopy for diagnosis of intrathoracic lesions in children. *J Pediatr Surg* 11:703-708, 1976
18. Gans SL, Berci G. Peritoneoscopy in infant and children. *J Pediatr Surg* 8: 399-405, 1973
19. Gans SL, Johnson DG, Berci G: Laparoscopy in infant and children. In Berci (ed): *Endoscopy*, Appleton-Century Krafts, 1976
20. Cuschieri A, Dubois F, Mouiel J, Mourel P, Becker H, Buess G, Trede M, Troidi H (1991) The European experience with laparoscopic cholecystectomy *Am J Surg* 161: 385-387
21. Johnson A (1997) Laparoscopic surgery. *Lancet* 349: 631- 635
22. Tomita H, Marcello PW, Milsom JW (1999) Laparoscopic surgery of the colon and rectum. *World J Surg* 23: 397-405
23. Milsom JW, Böhm B, Hammerhofer KA, Fazio VW, Steiger E, Elson P (1998) A prospective, randomized trial comparing laparoscopic versus conventional techniques in colorectal cancer surgery: a preliminary report. *J Am Coll Surg* 187:46-57
24. Stage JG, Schulze S, Moller P, Overgaard H, Andersen M, Rebsdorf Pedersen VB, Nielsen HJ (1997) prospective Randomized study of laparoscopic versus open colonic resection for adenocarcinoma *Br JSurg* 84:391-396
25. Schwenk W, Böhm B, Haase O, Junghans T, Müller JM (1998) Laparoscopic versus conventional colorectal resection: a prospective randomized study of postoperative feeding. *Langenbecks Arch Surg* 383:49-55
26. Schwenk W, Böhm B, Müller JM (1998) Postoperative pain and fatigue after Laparoscopic or conventional colorectal resection: a prospective randomized trial. *Surg Endosc* 12:1131-1136

27. Lacy AM, Garcia-Valdecasa JC, Pique JM (1995) Short-term outcome analysis of a randomized study comparing laparoscopic versus open colectomy for colon cancer. *Surg Endosc* 9:1101-1105
28. Milsom JW, Böhm B (1996) *Laparoscopic colorectal surgery*. Springer, Berlin Heidelberg, New York, pp
29. Manson JRT, Darzi A, Carey PD, Guillou PJ (1992) Prospective evaluation of laparoscopic-assisted colectomy in an unselected group of patients. *Lancet* 340:831-833
30. Doğruyol H, Gürpınar A, Thoracoscopic excision of a giant oesophageal duplication cyst. BAPES, Oxford, England, 23-25 September 2002
31. Esteo JM, Mac Giluray TE, Hedrick WH et al: Fetoscopic surgery for the treatment of congenital anomalies. *J Pediatr Surg* 27:950-954, 1992
32. Szabo Z, Huter J, Berci G et al. Analysis of surgical movements during suturing in laparoscopy. *End Surg* 2:55-61, 1994
33. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Jordan S. Pober: *Cellular and Molecular Immunology*. Wb saunders Company. 1991
34. Kamani NK, Douglas SD: *Structure and development of the immune system*. Basic and Clinical immunology 7th edition appleton&Lange, California 1991.
35. Esser C, Radbruch A. Immunoglobulin class switching: Molecular and cellular analysis. *Annual Review of immunology* 8:717-735, 1990
36. Riddle PR, Berenbaum MC. Post-operative depression of the lymphocyte response phytohaemagglutinin. *Lancet* 1967;1:746-8.
37. Park S, Brody JI, Wallace HA, Blakemore WS. Immunosuppressive effect of surgery. *Lancet* 1971;1:53-5
38. Lundy J, Ford CM. Surgery, trauma and immunosuppression. Evolving the mechanism. *Ann Surg* 1983;197:434-8.
39. Editorial: Post-operative immunosuppression. *Lancet* 1974;2:817-8.
40. Howard RJ, Simmons RL. Acquired immunologic deficiencies after trauma and surgical procedures. *Surg Gynecol Obstet* 1974;139:771-82.
41. Allison JP, Lanier LL: Structure, function and serology of T-cell antigen receptor complex. *Annu Rev. Immunol* 5,503, 1987.
42. Boehmer H: The development biology of T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 6: Von 309-326, 1993

43. Hsu S, Cossman J Jaffe ES: Lymphocyte subsets in normal lymphoid tissues. *Am J Clin Pathol.* 80:21, 1993
44. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Jordan S. Pober: *Cellular and Molecular Immunology.* Wb saunders Company. 1991
45. Reid K. B. Day A. J. Structure-function relationship of the complement components. *Immunology Today* 10:177-180, 1989
46. Davis M, Bjorkman P.J. T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition. *Nature* 334-395-402, 1998
47. Vitetta E.S. Fernandez- Botran, Myers C.D. Sanders V. M. Cellular interactions in the humoral immune response. *Advances in immunology.* 54:1-105, 1989.
48. Chen J, Alt FW: Gene rearrangement and B-cell development. *Curr. Opin. Immunol* 5:194-200, 1993.
49. Cambier J.C. Ransom J.T. Molecular mechanism of transmembrane signaling in B lymphocytes. *Annual review of immunology* 5:175-199, 1987
50. Kishimoto T: Factors, receptors and signals for B lymphocyte activation. *Prog Allergy* volume 42. Karger, Basel 1988.
51. Kozakova H, Stepankova R. Humoral and cellular immune responses in gluten-treated suckling or hand-fed rats. *Physiol Res.* 2000;49(6):665-72.
52. Finkelman F.D. Holmes J. Katona M. Lymphokine control of in vivo immunoglobulin isotype selection. *Annual review of immunology.* 8:303-333. 1990
53. Jelinek D.F. Lipsky P.E. Regulation of human B lymphocyte activation, proliferation and differentiation. *Advances in immunology* 40:1-60, 1987
54. Douglas RE, Johnson MD, Spencer MP, et al. Laparoscopic versus open colectomy : A comparative study of the systemic stress response. *Surg Endosc* 1994;8:447
55. Glasfer F, Sannwald GA, Buhr HJ, Kuntz C, Mayer H, Klee F, Herfarth C (1995) General stress response to conventional and laparoscopic cholecystectomy. *Ann Surg* 221:372-380
56. Hamid J, Bancewicz J, Brown R, et al. The significance of changes in blood lymphocyte populations following surgical operations. *Clin Exp Immunol* 1984;56:49-57

57. Brune IB, Wilke W, Hensler T, Feussner H, Holzmann B, Siewert JR (1998) normal T lymphocyte and monocyte function after minimally invasive surgery. *Surg Endosc* 12;1020-1024
58. Kloosterman T, von Blomberg ME, Borgstein P, Cuesta MA, Scheper RJ, Meijer S (1994) Unimpaired immune function after laparoscopic cholecystectomy. *Surgery* 115: 424-428
59. Halevy A, Lin G, Gold-Deutsch R, et al. Comparison of serum C-reactive protein concentrations for laparoscopic versus open cholecystectomy. *Surg Endosc* 1995;9: 280-282
60. Gal L, Lanios L, Roth E. Changes of PMN-elastase and C-reactive protein following traditional and laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 1996;10:552(abstract)
61. Travis J. Structure, function, and control of neutrophil proteinases. *Am J Med* 1988;84:37-42.
62. Walker CB, Bruce DM, Heys SD, Gough DB, Binnie NR, Eremin O (1999) Minimal modulation of lymphocyte and natural killer cell subsets following minimal access surgery. *Am J Surg* 177: 48-54.
63. Sido B, Teklote JR, Hartel M, Friess H, Büchler MW. Inflammatory response after abdominal surgery. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2004 Sep;18(3):439-54. Review
64. Sietses C, Wiezer MJ, Eijssbouts QAJ, Belen RHJ, van Leeuwen PAM, von Blomberg BME, Meijer S, Cuesta MA (1999) A prospective randomized study of the systemic immune response after laparoscopic and conventional Nissen fundoplication. *Surgery* 122: 5-9
65. Aranson KF, Ekelund G, Kindmark CO, et al. Sequential changes of plasma proteins after surgical trauma. *Scand J Clin Lab Invest* 1972;29:127-136
66. Trokel MJ, Besler M, Treat MR, Whelan RL, Nowygrod R. Preservation of immune response after laparoscopy. *Surg Endosc* 1994;8:1385-8
67. Carey PD, Wakefield CH, Thayeb A, et al. Effects of minimally invasive surgery on hypochlorous acid production by neutrophils. *Br J Surg* 1994;81:557-560
68. Eyrard S, Falkenrodt A, Tassette V, et al. Influence of CO₂ Pneumoperitoneum upon systemic & peritoneal cell mediated immunity. *Surg Endosc* 1996;10:550
69. Hammer JH, Nielsen HJ, Moesgaard F, Kehlet H. Duration of postoperative

- immunosuppression assessed by repeated delayed type hypersensitivity skin test. *Eur Surg Res* 1992;24:133-7
70. Mealy K, O'Farrelly C, Stephens R, Feighery C. Impaired neutrophil function during anesthesia and surgery is due to serum factors. *J Surg Res* 1987;43:393-7
71. MacLean LD. Delayed type hypersensitivity testing in surgical patients. *Surg Gynecol Obstet* 1988;166:285-93
72. Griffith JP, Everitt NJ, Lancaster F, Boylston A, Richards SJ, Scott CS, Benson EA, Sue-Ling HM, McMahon MJ: Influence of laparoscopic and conventional cholecystectomy upon cell-mediated immunity. *Br J Surg* 1995;82:677-680
73. Hansbrough JF, Bender EM, Zapata-Sirvent R, Anderson J (1984) Altered helper and suppressor lymphocyte populations in surgical patients : a measure of postoperative immunosuppression . *Am J Surg* 148: 303-307
74. Wakefield CH, Carey PD, Foulds S et al. Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T cells of patients developing infection after surgery . *British Journal of Surgery* 1993;80:205-209
75. Shafir M, Bekesi JG, Papatestas A, Slater G, Aufses AH Jr. Preoperative and postoperative immunological evaluation of patients with colorectal cancer. *Cancer* 1980;46:700-5
76. Brune IB, Wilke W, Hensler T, Holzmann B, Siewert JR. Downregulation of T helper type 1 immune response and altered pro-inflammatory and anti-inflammatory T cell cytokine balance following conventional but not laparoscopic surgery. *Am J Surg* 1999;177:55-60
77. Ogawa K, Hirai M, Katsube T, Murayama M, Hamaguchi K, Shimakawa T et al. Suppression of cellular immunity by surgical stress. *Surgery* 2000;127:329-326.
78. Kase H, Kobayashi K, Honda R, Washizawa N, Satoh Y, Nagasawa S et al. Influence of surgical stress on immunological activity in patients with gastric cancer and an attempt on the effect of early recovery by pre-operative immunotherapy . *Jpn J Gastroenterol Surg* 1991;24: 1938-46.
79. Cristaldi M, Rovati M, Elli M, Gerlinzani S, Lesma A, Balzarotti L, Taschieri AM (1997) lymphocytic subpopulation changes after open and laparoscopic cholecystectomy: a prospective and comparative study on 38 patients . *Surg Lap Endosc* 7:255-261
80. Pertilla J, Salo M, Ovaska J et al. Immune response after laparoscopic and conventional Nissen fundoplication . *European Journal of Surgery* 1999; 165: 21- 28
81. Katano M, Nagumo F, Yamamoto H, Hisatsugu T, Tadano L. Effect of operation

- on host cellular immunity. *Biotherapy* 1993; 7:711-13
82. Tang CL, Eu KW, Tai BC et al. Randomized clinical trial of the effect of open versus laparoscopically assisted colectomy on systemic immunity in patients with colorectal cancer. *British Journal of Surgery* 2001;88:801-
83. Walker CBJ, Bruse D, Heys SD, Gough DB, Binnie NR, Eremin O (1999) Minimal modulation of lymphocyte and natural killer cell subsets following minimal access surgery. *Am J Surg* 177: 48-54
84. Dionigi R, Dominioni L, Benevento A, Guide G, Cuffari S, Bordone N, Caravati F, Carcano G, Gennari R: Effects of surgical trauma of laparoscopic vs. open cholecystectomy. *Hepatogastroenterology* 1994; 41:4781-476
85. Gitzelmann CA, Mendoza-Sagaon M, Ahmad SA, Pegoli W, Paidas CN, Talamini MA. Cell-mediated immune response: laparoscopy versus laparotomy. *Surg Forum* 1996;47:148-50
86. Vallina VL, Velasco JM (1996) The influence of laparoscopy on lymphocyte subpopulations in the surgical patient. *Surg Endosc* 1996;10: 481-484
87. Glerup H, Heindorff H, Flyvbjerg A, Jensen SL, Vilstrup H: Elective laparoscopic cholecystectomy nearly abolishes the postoperative hepatic catabolic stress response. *Ann Surg* 1995;221-214-219
88. Mendoza-Sagaon M, Gitzelman CA, Herreman-Suquet K, Pegoli W, Talamini MA, Paidas CN. Immune Response: effects of operative stress in a pediatric model. *J Pediatr Surg* 1998;33:388-93
89. Gutt CN, Hollander D, Brier CH, Kim ZG, Lorenz M (2001) Influence of laparoscopy and laparotomy on systemic and peritoneal T lymphocytes in a rat model. *Int J Colorectal Dis* 16:216-220
90. Hewitt PM, Ip SM, Kwok SP, Somers SS, Li K, Leung KL, Lau WY, Li AK (1998) Laparoscopic-assisted vs open surgery for colorectal cancer: comparative study of immune effects. *Dis Colon Rectum* 41: 901-909.
91. Liang JT, Shieh MJ, Chen CN, Cheng YM, Chang KJ, Wang SM (2002) Prospective evaluation of laparoscopy assisted colectomy versus laparotomy with resection for management of complex polyps of the sigmoid colon. *World J Surg* 26: 377-383.