

Farklı Yaş Grubundaki Sıçanlarda Laparoskopik ve Açık Cerrahi Sonrası Hücresel İmmün Yanıt

Cellular Immune Response After Laparoscopic and Open Surgery in Different Age Groups of Rats.

Tülin Öztaş¹, Ünal Bıçakcı², Rıza Rızalar³, Tunç Fışgın⁴

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

²Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Samsun, Türkiye

³Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Altınbaş Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hematolojisi Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

GİRİŞ ve AMAÇ: Bu çalışmanın amacı farklı yaş gruplarındaki sıçanlarda açık ve laparoskopik cerrahi sonrası hücresel immün yanıtındaki değişiklikleri karşılaştırmaktır.

YÖNTEM ve GEREÇLER: Çalışmada 24 adet Wistar albino cinsi sağlıklı dişi sıçan kullanıldı. Denek hayvanları üç gruba ayrıldı. Yavru (n=8), prepuberte (n=8), erişkin (n=8) Her grupta laparotomi (n=4) ve laparoskopi (n=4) olarak iki subgruba ayrıldı. Laparotomi orta hat kesisi ile gerçekleştirildi. Laparoskopi göbekten yerleştirilen trokar aracılığıyla yapıldı. Laparotomi ve laparoskopi tanısıl amaçlı yapıldı. Ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası ilk 24 saatte T lenfosit subgrupları (CD3+ T lenfosit, CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit) ve CD4/CD8 oranı ölçüldü.

BULGULAR: Tüm yaş gruplarında açık ve laparoskopik cerrahi sonrası serum CD3+ T lenfosit, CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit sayısı ve CD4/CD8 oranı açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (p>0.05).

TARTIŞMA ve SONUÇ: Farklı yaş gruplarında postoperatif hücresel immün yanıtındaki değişiklikler açısından açık ve laparoskopik cerrahinin birbirine üstünlükleri saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: laparoskopi, laparotomi, T lenfosit subgrup

ABSTRACT

INTRODUCTION: The aim of this study to compare the cellular immune changes of laparoscopic and open access surgery in different age groups of rats.

METHODS: Animal model was consisted of 24 Wistar albino healthy female rats. They were divided into three groups; infant (n=8), prepubertal (n=8), adult (n=8). The groups were further divided into 2 subgroups as a laparotomy (n=4) and laparoscopy (n=4). The rats underwent either laparotomy or laparoscopy. The laparotomy was made using a midline incision. The laparoscopy was performed through the umbilical port. Both laparotomy and laparoscopy were diagnostic. T lymphocyte subgroups (CD3,CD4,CD8) and CD4/CD8 ratio were measured pre and 24 hours postoperatively

RESULTS: There was no statistically significant difference in serum CD3,CD4,CD8 count and CD4/CD8 ratio measured after laparoscopic and open surgery in all age groups to evaluate cellular immune response (P> 0.05).

DISCUSSION AND CONCLUSION: Open surgery and laparoscopy were not superior to each other in terms of changes in the postoperative cellular immune response in different age groups.

Keywords: laparoscopy, laparotomy, T lymphocyte subgroups.

İletişim / Correspondence:

Dr. Öğr. Üye Tülin Öztaş

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

E-mail: tulinoztas@hotmail.com

Başvuru Tarihi: 19.06.2020

Kabul Tarihi:08.03.2021

GİRİŞ

Cerrahi prosedürler sonrası oluşan doku travması ve cerrahi stresin büyüklüğüne bağlı olarak hücrel immunitede daha fazla olmak üzere immun sistemde geçici baskılanma çok sık görülmektedir (1-4). Operasyon esnasında kullanılan anestezi ajanlarda postoperatif dönemde hücrel immunitenin baskılanmasına katkıda bulunan faktörlerdendir (5,6). Hücrel immunitede major rol alan T lenfositlerin birçok tipi vardır. T helper (CD4) ve T supressör (CD8) en sık görülen T lenfosit tipleridir (7). Tüm T lenfositlerin yüzeyinde koreseptör olarak CD3 bulunur (7). Operasyonun oluşturduğu strese bağlı olarak serum CD3+,CD4+,CD8+T lenfosit sayısında ve CD4/CD8 oranında değişiklikler oluşmaktadır (8). Bu çalışmanın amacı farklı yaş gruplarında laparoskopi ve laparotomi sonrası hücrel immün yanıtındaki değişiklikleri karşılaştırmaktır.

MATERYAL METOD

Bu deneysel çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma merkezinde Çocuk Hematoloji bilim dalının katkılarıyla gerçekleştirildi. Çalışmada laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanım kılavuzu prensiplerine uygun olarak hayvan hakları korunmuştur. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik kurulundan onay alınmıştır (2007/). Çalışmada 24 adet Wistar Albino cinsi sağlıklı dişi sıçan kullanıldı.

Operasyondan yedi gün önce çalışmaya katılan sıçanların ağırlıkları kaydedildi ve sıçanlar normal oda sıcaklığı ve nemine sahip ortama kondular. Sıçanlar erişkin (200-240 gram, n=8), prepuberte (190-114 gram, n=8) ve yavru (50-70 gram, n=8) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Her bir grup kendi arasında laparoskopi (n=4) ve laparotomi (n=4) grubu olarak iki alt gruba ayrıldı. Denekler operasyondan on iki saat önce aç bırakıldılar. Tüm sıçanlar preoperatif eterle sedatize edildi. Kuyruk veninden 0,5 ml kan örneği alınarak serum CD3+, CD4+, CD8+lenfosit sayımı için saklandı. Anestezi için gruplara uygun olarak 90 mg/kg dozunda intramuskuler (IM) Ketamine Hydrochloride (Ketalar 500 mg enjektabl flakon, Pfizer ilaçları Ltd, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Her sıçana preoperatif profilaktik amaçlı grubuna uygun olarak (5-15 mg/kg) IM seftriakson (Desefin 500 mg im

flakon, Deva Holding A.Ş., İstanbul, Türkiye) uygulandı. Denekler masaya supin pozisyonunda yerleştirilerek tesbitlendi. Batın traşlandı ve povidon iyodür ile temizlendi.

Laparotomi grubu: Tanısal amaçlı orta hat 2 cm'lik kesi ile laparotomi yapıldı. Organların sağlamlığı kontrol edilerek kesi kapatıldı. Laparotomi süresi 30 dakika idi.

Laparoskopi grubu: Pubis ile ksifoid proçes arasındaki uzaklığın yarısına (1/2) veres iğnesi ile girildi. 7 mmHg basınçla CO2 verilerek pnömoperitoneum oluşturuldu ve veres iğnesi çıkarıldı. Ardından 3 mm'lik trokar yerleştirildi. Trokarın içerisinden 30 derecelik artroskop ilerletilerek CO2 tekrar verildi. 10 mmHg basınçta tanısal amaçlı pelvis ve batın içerisi gözlemlendi. CO2 gazı geri alınarak işleme son verildi. Laparoskopi süresi toplam 40 dakika olup 30 dakika pnömoperitoneum oluşturuldu

Postoperatif birinci gün tüm sıçanlardan 0,5 ml kan örneği alındı. Preoperatif ve postoperatif alınan kan örneklerinde flowsitometrik incelemeler yapıldı. Hücre süspansiyonları FACS (Fluorescence – activated cell sorter) (Becton Dickinson San, Jose, CA,USA) aracıyla analiz edildi.

İstatistiksel yöntem

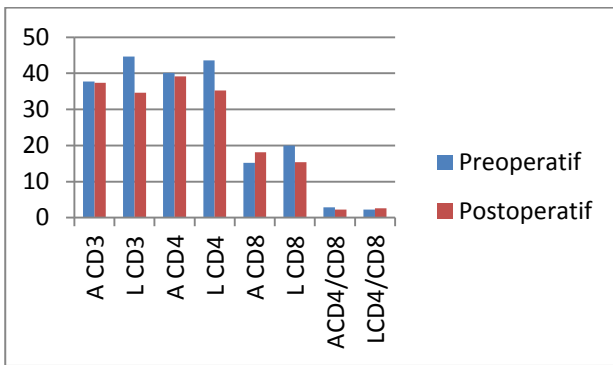
Çalışmada elde edilen veriler SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. (SPSS Inc. Released 2008. Chicago) paket programı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Kategorik değişkenler sayı (n) ve yüzde (%) olarak ifade edildi ve sürekli verilerin normal dağılımını incelemek için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. 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. Tüm verilerde p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda üç farklı yaş grubunda preoperatif ve postoperatif CD3+, CD4+ ve CD8+ T lenfosit yüzdesi ve CD4/CD8 oranı değerlendirildi.

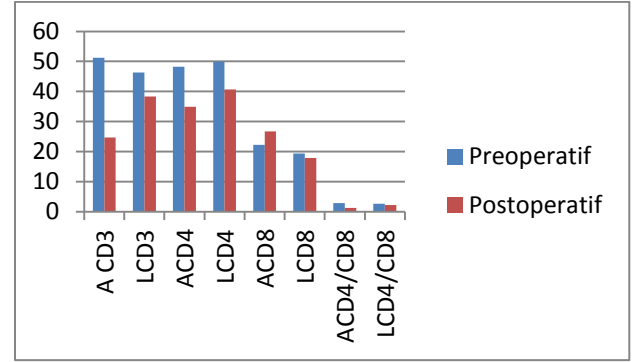
Yavru sıçanların laparotomi ve laparoskopi gruplarında cerrahi sonrası cerrahi öncesine oranla CD3+ düzeylerinde azalma gözlemlense de, her iki

grupta cerrahi öncesi ve sonrası CD3+, CD4+ ve CD8+ T lenfosit yüzdesi ve CD4/CD8 oranlarında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Yavru sıçan grubunda açık cerrahi sonrası CD3+ T lenfosit %37,4, CD4+ T lenfosit %39,1, CD8+T lenfosit %18,1 ve CD4/CD8 oranı 2,2 idi. Laparoskopisi sonrası CD3+T lenfosit %34,6, CD4+T lenfosit %35,2, CD8+T lenfosit %15,4 ve CD4/CD8 oranı 2,6 idi. Çalışmamızda yavru sıçan grubunda açık cerrahi ve laparoskopisi sonrası CD3, CD4, CD8 +T lenfosit sayısı ve CD4/CD8 oranında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Grafik 1).



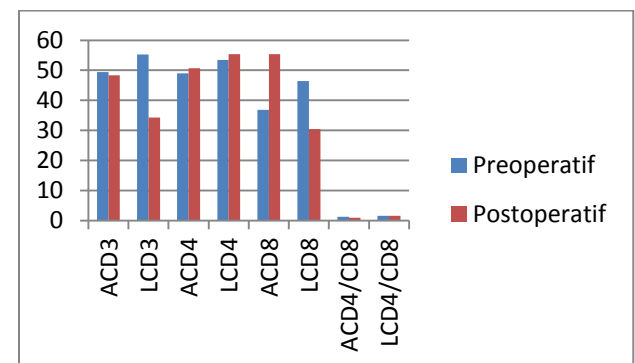
Grafik 1: Yavru sıçan laparotomi ve laparoskopisi gruplarında preoperatif ve postoperatif CD+T lenfosit (%) sayısı ve CD4/CD8 oranı.

Prepuberte sıçanlarda cerrahi sonrası laparotomi ve laparoskopisi grupları arasında CD3+ T lenfosit düzeyleri cerrahi öncesinden daha düşük idi ancak laparotomi ve laparoskopisi gruplarında cerrahi öncesi ve sonrası CD3+ CD4+ ve CD8+ T lenfosit yüzdesi ve CD4/CD8 oranları açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Prepuberte grubunda açık cerrahi sonrası CD3+T lenfosit %24,7, CD4+T lenfosit %34,9, CD8+T lenfosit %26,7 ve CD4/CD8 oranı 1,3 idi. Laparoskopisi sonrası CD3+T lenfosit %38,8, CD4+T lenfosit %40,7, CD8+T lenfosit %17,9 ve CD4/CD8 oranı 2,2 idi. Çalışmamızda prepuberte grubunda açık cerrahi ve laparoskopisi sonrası CD3, CD4 CD8+T lenfosit sayısı, CD4/CD8 oranında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Grafik 2).



Grafik 2: Prepuberte laparotomi ve laparoskopisi gruplarında preoperatif ve postoperatif CD+T lenfosit (%) sayısı ve CD4/CD8 oranı.

Erişkin sıçanlar da laparotomi ve laparoskopisi gruplarında cerrahi işlem sonrası CD3+T lenfosit düzeylerinde cerrahi öncesine oranla azalma vardı, fakat her iki grupta CD3+,CD4+ ve CD8+ T lenfosit yüzdesi ve CD4/CD8 oranlarında cerrahi öncesi ve sonrası anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$).Erişkin grubunda açık cerrahi sonrası CD3+ T lenfosit %48,3, CD4+ T lenfosit %50,7, CD8+ T lenfosit %55,4 ve CD4/CD8 oranı 1,0 idi. Laparoskopisi sonrası CD3+T lenfosit %34,3, CD4+T lenfosit %55,4, CD8+T lenfosit %30,5 ve CD4/CD8 1,6 oranı idi. Çalışmamızda erişkin grubunda açık cerrahi ve laparoskopisi sonrası CD3, CD4 CD8+T lenfosit sayısı ve CD4/CD8 oranında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Grafik 3).



Grafik 3: Erişkin laparotomi ve laparoskopisi gruplarında preoperatif ve postoperatif CD+T lenfosit (%) sayısı ve CD4/CD8 oranı.

TARTIŞMA

Laparoskopik işlemlerin açık cerrahiye oranla daha az stres ve inflamatuvar reaksiyon oluşturduğu ve hücrel immun yanıtta daha az baskılanmaya neden olduğu bildirilmiştir (7,9). CD3'ün hücrel immunitede hayati rolü olan olgun T lenfositlerin yüzeyinde bulunduğu ve CD3 miktarının total T lenfosit sayısını ve fonksiyonunu yansıttığı belirtilmiştir (10). Açık ve laparoskopik cerrahi sonrası hücrel immunitede baskılanma olduğu ve çalışmamızda olduğu gibi CD3 düzeylerinin azaldığı raporlanmıştır (11). Gastrik perforasyonlu hastaların incelendiği bir çalışmada laparoskopik cerrahi yapılan hastaların CD3, CD4, CD16 ve CD56 düzeylerinin açık cerrahi yapılan gruptan daha yüksek olduğu belirtilmiştir (12). Sıçanlarla yapılan deneysel bir çalışmada laparoskopi ve geleneksel cerrahi sonrası dalakta üretilen CD3+, CD4+ ve CD8+T lenfosit miktarında farklılık olmadığı belirtilmiştir (13). Çalışmamızın sonuçları farklı yaş gruplarında açık ve laparoskopik cerrahi sonrası istatistiksel anlamlı olmasa da CD3+T lenfosit sayısının azaldığını ve her üç yaş grubunda benzer oranda immun yanıtta baskılanma olduğunu düşündürmektedir.

CD4 ve CD8 strese bağlı olarak dolaşımdaki miktarı değişen T lenfositlerdendir. Yapılan bir çalışmada açık ve laparoskopik cerrahi sonrası CD4, CD8 ve NK hücre sayılarının azaldığı, fakat laparoskopi sonrası CD4, CD8 ve NK hücre sayısının daha fazla olduğu ve açık cerrahiden daha erken preoperatif değerlerine döndüğü raporlanmıştır (14). Bazı çalışmalarda laparoskopi sonrası açık cerrahiye oranla CD4 ve CD8+T lenfosit düzeyinin postoperatif dördüncü gün daha yüksek olduğu ve laparoskopi sonrası hücrel immunitenin daha iyi korunduğu bildirilirken (4,15), vücudun çeşitli organlarında kanser olan hastalarla yapılan çalışmalarda çalışmamızda olduğu gibi laparoskopi ve laparotomi sonrası CD4, CD8 düzeylerinin farklı olmadığı bildirilmiştir (16,17). Açık ve laparoskopik kolesistektomi sonrası sirkülasyondaki T lenfosit sayısı karşılaştırılmış ve postoperatif ilk 24 saatte laparoskopi sonrası T lenfosit sayısının açık cerrahiye oranla daha fazla olduğu raporlanmıştır (18). Açık ve laparoskopik cerrahi yapılan kolorektal kanserli hastalarda B lenfosit, T lenfosit CD4 ve CD8 düzeylerinde postoperatif belirgin azalma olduğu ve diğer çalışmaların aksine

laparoskopik kolorektal cerrahi sonrası immun yanıtın daha iyi korunmadığı raporlanmıştır (19). Çalışmamızda erişkin yaş grubunda açık cerrahi sonrası diğer yaş gruplarına göre nisbeten CD4+T lenfosit ve CD8+T lenfosit artışı saptansa da bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmamızın sonuçları farklı yaş gruplarında postoperatif ilk 24 saatte laparoskopik ve açık cerrahi sonrası immun yanıtta benzer değişiklikler olduğunu göstermiştir.

Hücrel immun fonksiyonun bir göstergesi olan CD4/ CD8 dengesinin cerrahi stres ile ilişkili olarak değiştiği ve postoperatif CD4/CD8 oranının azaldığı raporlanmıştır (8). Yapılan bazı çalışmalarda laparoskopi sonrası CD4 ve CD4/CD8 oranı açık cerrahiye göre daha fazla bulunmuş ve laparoskopinin T lenfositler üzerinde daha az baskılanma yaptığı belirtilmiştir (7,20). Çalışmamızda laparoskopik ve açık cerrahi sonrası CD4/CD8 oranında anlamlı bir değişiklik saptanmamış olup çalışmamızın sonuçları farklı yaş gruplarında laparoskopi sonrası hücrel immun yanıtın daha iyi korunmadığını düşündürmektedir. Çalışmanın kısıtlılığı denek sayısının az oluşu, sadece hücrel immun yanıtın değerlendirilmesi çalışmamızın kısıtlayıcı yönleri idi. Açık ve laparoskopik cerrahi ile hücrel immunitenin arasındaki ilişkiyi açıklamada CD3, CD4, CD8 dışındaki diğer T lenfosit subgruplarının incelenmesine ihtiyaç vardır.

SONUÇ

Çoğu açık cerrahi operasyon zamanla yerini laparoskopik cerrahiye bırakmıştır. Laparoskopinin açık cerrahiye oranla daha hızlı yara iyileşmesi, daha az hastanede yatış ve daha iyi kozmetik sonuç gibi avantajları olsa da süt çocuğu, prepuberte ve erişkin yaş gruplarında postoperatif hücrel immun yanıtındaki değişiklikler açısından açık cerrahi ve laparoskopinin birbirine üstünlükleri saptanmamıştır. Çalışmamızda laparoskopi ve laparotomi benzer sürede ve tanısal amaçlı yapılmış olup major cerrahi işlem yapılmamıştır. Major ve daha uzun süreli cerrahi işlem sonrası immun yanıtta laparotomi ve laparoskopi sonrası farklılık gözlemlenebilir.

KAYNAKLAR

- 1 Lachmann G, Haefen C V, Kurth J, Yuerek F, Spies C. Innate immunity recovers earlier than acquired immunity during severe postoperative immunosuppression. *Int J Med Sci.* 2018;15(1):1-9.
- 2 Veenhof AAFA, Sietses C, von Blomberg BME, van Hoogstraten, vd Pas MHGM, Meijerink WJHJ, et al. The surgical stress response and postoperative immune function after laparoscopic or conventional total mesorectal excision in cancer randomized trial. *Int J Colorectal Dis.* 2011; 26(1): 53-9.
- 3 Liu C, Liu J, Zhang S. Laparoscopic versus conventional open surgery for immune function in patients with colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2011; 26(11):1375–85.
- 4 Arai Y, Saito H, Ikeguchi M. Upregulation of TIM-3 and PD-1 on CD4+ and CD8+ T Cells Associated with Dysfunction of Cell-Mediated Immunity after Colorectal Cancer Operation *Yonago Acta Med.* 2012; 55(1): 1–9.
- 5 Cocelli LP, Ugur MG, Karadasli H. Comparison of effects of low-flow sevoflurane and desflurane anesthesia on neutrophil and T-cell populations. *Curr Ther Res Clin Exp.* 2012;73(1-2):41–51.
- 6 Vanni G, Materazzo M, Perretta T, Meucci R, Anemona L, Buonomo C et al. Impact of Awake Breast Cancer Surgery on Postoperative Lymphocyte Responses. *In Vivo.* 2019;33(6): 1879-84.
- 7 Zhang N, Liu H, Zhang Z, Wang S, Guo S. The Difference of the Impacts of Surgical Approaches on Cellular Immunity in Patients with Uterine Malignancies: A Comparative Study of Laparoscopy and Laparotomy Surgery. *Gynecol Obstet Invest.* 2011;71(3):177-82.
8. Liu S, Gu X, Zhu L, Wu G, Zhou H, Song Y et al. Effects of propofol and sevoflurane on perioperative immune response in patients undergoing laparoscopic radical hysterectomy for cervical cancer. *Medicine (Baltimore).* 2016; 95(49): e5479.
- 9 Shi Y-J. Curative effect of laparoscopic surgery on acute gastric perforation. *J Acute Dis.* 2017: 6(2); 57-61.
- 10 Xu D, Li J, Song Y, Zhou J, Sun F, Wang J et al. Laparoscopic surgery contributes more to nutritional and immunologic recovery than fast-track care in colorectal cancer. *World J Surg Oncol.* 2015 ;13: 18.
- 11 Wang G, Jiang Z, Zhao K, Li G, Liu F, Pan H et al. Immunologic Response After Laparoscopic Colon Cancer Operation Within an Enhanced Recovery Program. *J Gastrointest Surg.* 2012;16(7):1379–88.
- 12 Gutt CN, Hollander D, Brier CH, Kim ZG, Lorenz M. Influence of laparoscopy and laparotomy on systemic and peritoneal T lymphocytes in a rat model. *Int J Colorectal Dis.* 2001; 16 (4): 216-20.
- 13 Moehrlen U, Lechner A, Bäumel M, Dostert K, Röhl J, Meuli M, et al. Immune cell populations and cytokine production in spleen and mesenteric lymph nodes after laparoscopic surgery versus conventional laparotomy in mice. *Pediatr Surg Int.* 2012;28(5):507-13.
- 14 Karanika S, Karantanos T, Theodoropoulos GE. Immune response after laparoscopic colectomy for cancer: a review. *Gastroenterol Rep (Oxf).* 2013; 1(2) :85-94.
- 15 Huang C, Huang R, Jiang T, Huang K, Cao J, Qiu Z. Laparoscopic and open resection for colorectal cancer: an evaluation of cellular immunity. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 127.
- 16 Bobocea AC, Trandafir B, Bolca C Cordoş I. Minimally invasive surgery in cancer. Immunological response. *Chirurgia (Bucur)* 2012;107(2): 154-57.
- 17 Cui M, Gong C, Jiang B, Yao Z, Chen L, Di J et al. Evaluation of immune responses of gastric cancer patients treated by laparoscopic and open gastrectomy. *Med Oncol.* 2015; 32(11): 253.
- 18 Gomatos IP, Alevizos L, Kalathaki O, Kantsos H, Katakaki A, Leandros E et al. Changes in T-Lymphocytes' Viability After Laparoscopic Versus Open Cholecystectomy. *Int Surg.* 2015; 100(4): 696-701.
- 19 Wickman MW, Hütti TP, Winter H, Spelsberg F, Angele MK, Heiss MM et al. Immunological effects of laparoscopic vs open colorectal surgery. *Arch Surg.* 2005;140(7):692-97.
- 20 Hu Y, Zhao G, Zheng H. Therapeutic effects of laparotomy and laparoscopic surgery on patients with gastric cancer *Pak J Med Sci.* 2015; 31(3): 572-75.