

# Usporedba učinaka transuretralne resekcije prostate i endoskopske laserske ablacije prostate na postoperativni imunološki status bolesnika s adenomom prostate

---

**Bedalov, Goran**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2003**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:258537>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-28**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





**Središnja medicinska knjižnica**

**Bedalov, Goran (2003) *Usporedba učinaka transuretralne resekcije prostate i endoskopske laserske ablacije prostate na postoperativni imunološki status bolesnika s adenomom prostate [ Comparison between TURP and ELAP on postoperative immunological status in patients with BPH ].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/253>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Goran Bedalov**

**USPOREDBA UČINAKA TRANSURETRALNE RESEKCIJE  
PROSTATE I ENDOSKOPSKE LASERSKE ABLACIJE  
PROSTATE NA POSTOPERATIVNI IMUNOLOŠKI STATUS  
BOLESNIKA S ADENOMOM PROSTATE**

**Doktorska disertacija**

**Zagreb**  
**2003**

Rad je izrađen na Odjelu za urologiju Kliničke bolnice «Dubrava» uz sudjelovanje Zavoda za nuklearnu medicinu i Hematološko-biokemijskog laboratorija Kliničke bolnice «Dubrava» te u Zavodu za imunologiju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC»Rebro».

Voditelj rada: prof.dr.sc. Drago Batinić

Svome voditelju prof.dr.sc.Dragi Batiniću želim izraziti veliku zahvalnost na nesebičnom trudu tijekom provedbe imunološkog dijela istraživanja te na savjetima, pomoći i razumijevanju tijekom izrade rada.

Također iskreno zahvaljujem akademiku Petru Šimunoviću iz Instituta za hrvatski jezik i jezikoslovlje koji je lektorirao rad.

Zahvaljujem i kolegama iz Zavoda za nuklearnu medicinu i Hematološko-biokemijskog laboratorija na trudu koji su uložili u izradi ovoga rada.

Na kraju moram izraziti veliku zahvalnost jednom od mojih prvih učitelja doc.dr.sci. Ivi Vučkoviću, koji mi je nesebičnom pomoću i savjetima pomogao prilikom prijave teme ove doktorske disertacije.

# SADRŽAJ

## UVOD, CILJ I SVRHA RADA

<b>1. Adenom prostate</b>	1
<b>2. Transuretralna resekcija prostate (TURP)</b>	4
2.1. Povijesni pregled	4
2.2. Indikacije za TURP	5
2.3. Komplikacije TURP-a	5
<b>3. LASER</b>	7
3.1. Povijesni osvrt	7
3.2. Fizikalne osnove lasera	8
3.3. Vrste lasera	9
3.4. Interakcije laserskog zračenja s biološkim tkivima	10
3.4.1. Vrste interakcija tkiva i laserskog zračenja	12
3.5. Primjena lasera	13
3.5.1. Primjena lasera u biomedicini	13
3.5.1.1. Laserska dijagnostika	13
3.5.1.2. Terapijska primjena lasera	14
3.5.1.2.1. Primjena termalnih lasera	14
3.5.1.2.2. Primjena netermalnih lasera	16
3.5.2. Primjena lasera u urologiji	17
3.5.2.1. Laser u liječenju benigne hiperplazije prostate	19
3.5.2.2. Vizuelna laserska ablacija prostate (VLAP, ELAP, LAP)	20
<b>4. Usporedba tehnika TURP-a i VLAP-a</b>	21
<b>5. Imunološka reakcija organizma na ozljedu</b>	23
5.1. Metaboličke i neuroendokrine promjene	23
5.2. Neuroendokrini odgovor	25
5.3. Imunološke promjene	26
5.3.1. Pregled imunosti	26

5.3.1.1. Nespecifična (urođena) imunost	27
5.3.1.2. Specifična (stečena) imunost	27
<b>6. Organi i stanice imunosnog sustava</b>	<b>27</b>
6.1. Limfatički organi	27
6.2. Stanice imunosnog sustava	28
6.2.1. Limfociti	28
6.2.1.1. Limfociti T	28
6.2.1.2. Limfociti B	30
6.2.1.3. Prirođenoubilačke stanice	30
6.2.2. Profesionalne stanice koje predočuju antigen	30
6.2.3. Fagociti	31
6.2.4. Posredničke ili medijatorske stanice	31
<b>7. Tijek imunološke reakcije</b>	<b>31</b>
7.1. Prerada i predočavanje antigena	31
7.2. Imunološko prepoznavanje i razvoj specifične imunodne reakcije	31
7.3. Nespecifična humoralna imunost	33
7.4. Stanicama posredovana nespecifična imunost	33
<b>8. Utjecaj ozljede na imunodnu reaktivnost</b>	<b>34</b>
8.1. Poremećaj funkcije mononuklearnih fagocita	34
8.2. Poremećaj funkcije polimorfonuklearnih leukocita	34
8.3. Poremećaj funkcije NK-stanica	35
8.4. Poremećaj humoralne imunosti	35
8.5. Poremećaj na razini specifične stanične imunosti	36
<b>9. Sustavni učinci laserskog zračenja</b>	<b>37</b>
9.1. Laseri niske energije (LNE)	37
9.2. Laseri visoke energije	39
<b>10. Cilj i svrha rada</b>	<b>41</b>
<b>BOLESNICI I METODE</b>	<b>43</b>
<b>1. Bolesnici</b>	<b>43</b>
<b>2. Laboratorijske pretrage</b>	<b>44</b>

2.1. Hematološke pretrage	44
2.2. Biokemijske pretrage	44
2.3. Endokrinološke pretrage	44
2.4 Imunološke pretrage	45
2.4.1. Serumske pretrage	45
2.4.2. Imunološka fenotipizacija limfocita periferne krvi	45
2.4.2.1. Monoklonska protutijela	45
2.4.2.2. Obilježavanje stanica	46
2.4.2.3. Protočna citometrija	47
2.4.3. Test proliferacije limfocita	48
2.4.3.1. Test ugradnje radioaktivnog timidina	49
<b>3. Statistička obrada podataka</b>	<b>49</b>
<b>REZULTATI</b>	<b>50</b>
<b>RASPRAVA</b>	<b>78</b>
<b>ZAKLJUČCI</b>	<b>94</b>
<b>SAŽETAK</b>	<b>98</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>101</b>
<b>LITERATURA</b>	<b>104</b>
<b>ŽIVOTOPIS</b>	<b>128</b>

## POPIS KRATICA

- ACTH -adrenokortikotropni hormon
- ALT -alanin-aminotransferaza
- AST -aspartat-aminotransferaza
- CD -diferencijacijska skupina (*engl. cluster of differentiation*)
- CiS -karcinom *in situ*
- ConA -konkavalin A
- CPK -kreatinin-fosfokinaza
- CPM -otkucaji u minuti (*engl. counts per minute*)
- CRP -C-reaktivni protein
- DRE -digitorektalni pregled (*eng. digital rectal examination*)
- ELAP -endoskopska laserska ablacija prostate
- FDT -fotodinamička terapija
- GGT - $\gamma$ -glutamilttransferaza
- HeNe -helij neon
- Ig -imunoglobulin
- IL -interleukin
- IPSS -međunarodni upitnik za osjenu simptoma uzrokovanih dobroćudnim uvećanjem prostate (*engl. Inetrnational Prostate Symptom Score*)
- LhRh -hormon koji oslobađa luteinizacijski hormon
- Nd:YAG- *engl. Neodymium Yttrium Aluminium Garnet*
- NK -prirođenoubilačke stanice (*engl. natural killer*)
- PHA -fitohemaglutinin
- PSA -specifični prostatični antigen (*engl. Prostate-Specific Antigen*)
- PWM -korovski mitogenik (*engl. pokeweed-mitogen*)
- QL -kvaliteta života uz mokraćne tegobe (*engl. Quality of Life*)
- SI -indeks stimulacije
- T3 -trijod-tironin
- T4 -tiroksin
- Tc -citotoksični limfocit T



Th -pomagački limfocit T

TRUS -transrektalni ultrazvuk

TSH -tireotropin

TURP-transuretralna resekcija prostate (*engl. Transurethral Resection of the Prostate*)

VLAP-vizuelna laserska ablacija prostate

# UVOD CILJ I SVRHA RADA

## 1. ADENOM PROSTATE

Adenom prostate (benigna hiperplazija prostate, hipertrofija prostate) najčešće je oboljenje muškaraca starije životne dobi. Premda većina bolesnika s adenomom prostate ne zahtijeva liječenje, pogotovu ne kirurško, operacija adenoma prostate najčešća je urološka operacija i u nas i u svijetu.

Učestalost adenoma prostate iznosi 8% u četvrtom, 50% u šestom i 90% u devetom desetljeću života (1). Drugi autori upućuju na još veću učestalost adenoma prostate, koja dostiže 95,5% u osmom desetljeću života (2).

Etiologija adenoma prostate još uvijek nije poznata. Brojna istraživanja potvrđuju ulogu androgena, dok druga ukazuju i na važnu ulogu estrogena. U literaturi se također spominje uloga činitelja rasta, stromalno-epitelne interakcije, regulacije programirane smrti stanice (apoptoze), nasljednih čimbenika, a u novijim eksperimentalnim radovima ističe se uloga neandrogenih tvari koje proizvode testisi (3).

Patohistološki nalaz adenoma prostate pokazuje povećan broj epitelnih i stromalnih stanica u periuretralnoj "tranzicijskoj" zoni prostate. Prema tome, histološki se radi o hiperplaziji, pa su stoga nazivi hipertrofija, odnosno adenom prostate netočni s patohistološkog stajališta (4).

Patofiziologija posljedica adenoma prostate veoma je kompleksna. Uvećanje prostate povećava uretralnu rezistenciju što rezultira kompenzatornim promjenama u funkciji mokraćnog mjehura. Opstrukcija, povezana s promjenama vezanim uz dob na mokraćnom mjehuru i živčanom sustavu, rezultira polakiurijom, nikturijom te urgencijom. Navedeni simptomi ponajviše ometaju normalan život bolesnika.

U bolesnika s adenomom prostate simptomi se mogu, dakle, podijeliti u dvije skupine: prvi su iritativni (urgencija, polakiurija, nikturija), a drugi opstruktivni (čekanje na mlaz, napinjanje kod mokrenja, te slab i isprekidan mlaz pri mokrenju).

Dijagnoza adenoma prostate postavlja se na temelju anamneze (posebnu pozornost valja usmjeriti na urinarni trakt, prijašnje kirurške zahvate, opće stanje bolesnika, te procjenu eventualne mogućnosti kirurškog zahvata), kliničkog pregleda (prvenstveno digitorektalnog) te kliničkolaboratorijskih pretraga. Prigodom uzimanja anamneze,

bolesnici ispunjavaju međunarodni upitnik za ocjenu simptoma uzrokovanih uvećanjem prostate, tzv. “*International Prostate Symptom Score*” (IPSS; ocjene od 0 do 35) te ocjenjuju kvalitetu života uz mokraćne tegobe - QL (engl. *quality of life*) (ocjene od 1 - 6) (5).

Adenom prostate klinički se prezentira uvećanom i bezbolnom prostatom elastične konzistencije, što govori da se radi o dobroćudnom uvećanju prostate. U svih je bolesnika obvezatno odrediti serumsku razinu antigena specifičnog za prostatu (engl. *prostate specific antigen*, PSA) i kreatinina, kao i pretragu urina i urinokulturu (6). Nadalje, s pomoću ultrazvuka (UZV) određuje se volumen prostate suprapubičnom ili transrektalnom sonografijom, te volumen ostatnog urina nakon mokrenja. S pomoću UZV pregledavaju se i bubrezi kako bi se otkrila eventualno prisutna patologija (npr. hidronefroza, kamenci i drugi patološka stanja) i mokraćni mjehur (prisutnost kamenaca, divertikula ili tumora). Mjerenje protoka urina kroz mokraćnu cijev (urofloumetrija) nezaobilazna je pretraga kojom se ispituje stupanj subvezikalne opstrukcije. U slučaju da se na temelju gore navedenih podataka ne može donijeti odluka o načinu liječenja, tada se pristupa dodatnim pretragama kao što su “pressure-flow” studija, cistometrija i uretrocistoskopija.

Liječenje bolesnika s adenomom prostate može biti medikamentozno, operativno i “minimalno invazivno”.

U medikamentoznoj terapiji primjenjuju se alfa-blokatori, androgena supresija i fitoterapija. Alfa-blokatori uglavnom se primjenjuju u bolesnika s manjom prostatom, ali s izraženim iritativnim tegobama. Danas se uglavnom rabe alfa<sub>1</sub>-blokatori s produženim djelovanjem (doxazosin, terazosin) i selektivni alfa<sub>1a</sub>-blokator (tamsulosin), koji ima najmanje nepoželjnih popratnih pojava (7). Androgena supresija može se postići kirurškom kastracijom bolesnika ili medikamentozno. Lijekovi koji se primjenjuju u tu svrhu jesu agonisti činitelja oslobađanja luteotropnog hormona (LHRH), progesteron, antiandrogeni i inhibitor 5 $\alpha$  reduktaze, enzim pod čijim se utjecajem testosteron pretvara u dihidrotestosteron, spoj odgovoran za rast prostate (8). Fitoterapija (liječenje biljnim pripravcima) po svojoj je učinkovitosti na razini “placebo” učinka. Iako je u nekim zemljama još uvijek široko zastupljena (9), danas se smatra da uporaba biljnih pripravaka nema medicinskog opravdanja.

Operativni zahvat u liječenju adenoma prostate apsolutno je indiciran u slijedećim stanjima: a) potpunoj retenciji urina; b) pri učestalim urinarnim infekcijama; c) nalazu kamenaca mokraćnog mjehura; d) u slučaju trajne ili rekurentne makrohematurije; i e) oštećenju gornjeg urinarnog trakta. U ostalim slučajevima odluka o eventualnoj operaciji postavlja se na osnovi već prije navedenih parametara. Operacije na prostati dijele se na "klasične" (transvezikalna, retropubična i perinealna) i endoskopske, u koje spadaju transuretralna elektroresekcija prostate (TURP) i transuretralna incizija prostate (TUIP). Minimalno invazivne metode liječenja bolesnika s adenomom prostate jesu brojne, a uključuju intrauretralne stentove, balonsku dilataciju, hipertermiju, termoterapiju, forsirane ultrazvučne valove velike jakosti, transuretralnu ablaciju prostate s pomoću igle, elektrovaporizaciju prostate (EVAP) i laserske zahvate na prostati. **Intrauretralni stentovi** ("mrežice") postavljaju se u prostatičnu uretru kroz vrat mjehura do vanjskog sfinktera. Današnje mrežice predstavljaju trajno rješenje (mogu ostati *in situ* niz godina), pa su osobito pogodne u bolesnika s visokim rizikom u kojih je moguća primjena samo lokalne anestezije (10). **Balonska dilatacija** služi se posebno napravljenim balonskim kateterima koji mogu dilatirati prostatičnu uretru ili prostatičnu uretru i vrat mokraćnog mjehura (11). **Hipertermija** je postupak kojim se tkivo prostate zagrijava na temperaturu do 45°C, dok **termoterapija** označava postupak zagrijavanja prostate na temperature >45°C (12). **Fokusirani ultrazvuk velike jakosti** ("high-intensity focused ultrasound"-HIFU) izaziva koagulacijsku nekrozu prostate zagrijavanjem tkiva na temperature >70°C (13). **Transuretralna ablacija prostate s pomoću igle** (engl. *transurethral needle ablation of the prostate* -TUNA) postupak je kojim se u prostatu uvode radiofrekventne igle koje uzrokuju koagulacijsku nekrozu tkiva zagrijavanjem na temperaturu od 100°C (14). **Elektrovaporizacija prostate (EVAP)** je postupak u kojem posebno napravljena elektroda uvedena u prostatu uzrokuje "isparavanje" prostatičnog tkiva na temperaturama >100°C (15). **Laserski zahvati na prostati** uključuju transuretralnu lasersku prostatektomiju pod kontrolom ultrazvuka (TULIP), vizualnu (ili endoskopsku) lasersku ablaciju prostate (VLAP, odnosno ELAP), intersticijsku termoterapiju (ITT), kontaktnu lasersku ablaciju prostate (CLAP), i lasersku ablaciju ili resekciju prostate s pomoću holmijuma (HoLAP, HoLRP) (16-22).

## 2. TRANSURETRALNA RESEKCIJA PROSTATE (TURP)

Transuretralna (elektro)resekcija prostate (TURP) najčešća je operacija za liječenje adenoma prostate, pa se zbog toga i naziva "zlatnom standardnom metodom". To je ujedno i najčešća urološka operacija na većini uroloških odjela i jedna od najčešćih operacija u muškaraca (u SAD se nalazi na drugom mjestu svih zahvata na muškarcima, dok prvo mjesto zauzima operacija katarakte). TURP je metoda izbora za adenome manje i srednje veličine, tj. adenome čija težina iznosi 50-60g, no iskusni urolozi operiraju adenome i veće od 100 grama. Naime, TURP nije lako svladati, a podjednako je teška i za podučavanje: drži se da urolog vlada vještinom TURP-a tek nakon 50-100 izvršenih resekcija. To je, ujedno, i jedan od razloga zbog kojeg su se istraživale manje invazivne metode za liječenje adenoma prostate.

### 2.1. Povijesni pregled

I prije razvoja TURP-a bilo je pokušaja da se opstruktivno tkivo adenoma prostate odstrani transuretralnim putem. *Ambroise Pare* (1691.god.) zagovarao je primjenu olovnog katetera s oštricom pri vrhu kojom se razrezuju zapreke na vratu mokraćnog mjehura. Londonski kirurg *James Guthrie* (oko 1830. godine) uočio je da mokrenje ne otežava samo uvećana prostata već i oboljenja vrata mjehura, a te je probleme rješavao s pomoću posebno konstruiranog sječiva. Slične instrumente primjenjivali su nekoliko godina kasnije i francuski kirurzi *Civiale*, *Mercier* i *D'Etoilles*. Njihovi zahvati izvođeni su "na slijepo" i dovodili su do velikog gubitka krvi. Kirurg *Bettini* bio je prvi koji je 1874. godine primijenio termokauter grijan galvanskom strujom za inciziju vrata mjehura. Konstrukcija i usavršavanje cistoskopa (*Nitze*, 1879. godine) omogućili su izvođenje endoskopskih zahvata pod kontrolom oka. *D'Arsonval* je otkrio da izmjenična visokofrekventna struja ne podražuje živce i mišiće, a to su otkriću primijenili *Steevens* i *Bugbee* u SAD (1913. godine) i *Luys* u Francuskoj za liječenje vezikalne opstrukcije uzrokovane adenomom prostate. *Stern* je 1926. godine za rezanje tkiva prostate primijenio žičanu omču tj. resektoskop. Omčica resektoskopa rezala je tkivo bez karbonizacije, ostavljajući gladak tkivni kanal. *McCarthy* je 1932. godine usavršio Sternov resektoskop uvođenjem optike iz panendoskopa. Od 1970. godine konstruiraju se instrumenti u koje se ugrađuju sve bolji optički sustavi, a posebice *Hopkinsov* (1976. godine) koji je omogućavao odlični pregled operacijskog polja. Od tada se razvijaju i

instrumenti koji se koriste generatorima visokofrekventne struje, a koji omogućuju djelotvornu podvodnu resekciju i koagulaciju tkiva. Posljednjih godina usavršeni su resektoskopi ("protočni" i "rotacijski"), optički sustavi, kao i omčice za rezanje i koagulaciju tkiva (npr. "Coaguloop").

## **2.2. Indikacije za TURP**

U apsolutne indikacije za primjenu zahvata TURP spadaju kompletna retencija urina, makrohematurija, recidivirajući urinarni infekti, kamenci mokraćnog mjehura, te oštećenje gornjeg urinarnog trakta. Sve ostale indikacije su relativne, a odluka o zahvatu donosi se na temelju detaljnih kliničko-laboratorijskih pretraga.

## **2.3. Komplikacije TURP-a**

Komplikacije TURP-a možemo podijeliti na one koje se događaju za vrijeme zahvata, te na rane i kasne poslijeoperacijske komplikacije (23).

U intraoperacijske komplikacije ubrajamo krvarenje, perforaciju prostatične kapsule, intravazaciju tekućine za ispiranje, intravaskularnu hemolizu i sindrom TUR, opterećenje krvotoka i srčanu slabost, te prodor bakterija u krvni optok.

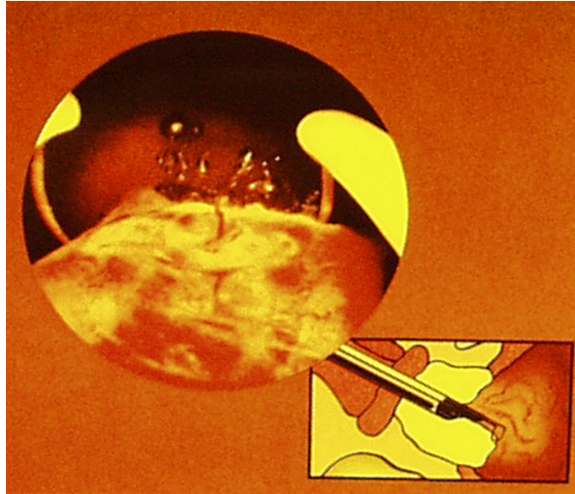
**Perforacija prostatične kapsule** često se vidi u obliku malenih perforacija koje se saniraju uvođenjem urinarnog katetera. Rjeđe su perforacije većeg opsega pri kojima se uočava nakupljanje tekućine za ispiranje u suprapubičnom prostoru: u tom slučaju potrebno je prekinuti endoskopski zahvat i drenirati perivezikalni prostor. **Intravazacija tekućine za ispiranje** nastaje zbog obilnog ispiranja operacijskog polja radi postizanja bolje preglednosti operacijskog polja, posebice ako se rabi hipotonična otopina ("sterilna voda"). **Intravaskularna hemoliza** nastaje zbog hipotonične otopine koja dovodi do hemolize eritrocita i hemoglobinemije. U teškim slučajevima razvija se akutna renalna insuficijencija. "**Sindrom TUR**" nastaje zbog resorpcije veće količine tekućine kojom se povećava ukupni volumen ekstracelularne tekućine: u krajnjem slučaju to stanje dovodi do edema pluća i mozga, a u najtežim slučajevima i do smrti bolesnika. **Opterećenje krvotoka i srčana slabost** mogu biti uzrokom srčane klijenuti tijekom operacije; dok prodor bakterija u krvotok može uzrokovati urosepsu.

U rane poslijeoperacijske komplikacije spadaju: bakterijemija, manifestna urinarna infekcija, epididimitis, krvarenje, tromboembolijske komplikacije, inkontinencija mokraće i ozljeda mokraćovoda.

Učestalost **bakterijemije** varira, ali je u svakom slučaju znatno manja u bolesnika sa sterilnom urinokulturom prije zahvata. Perioperativno davanje antibiotika smanjuje učestalost bakterijemije. Uz predoperacijske mikrobiološke analize urina i antibiotsku terapiju, učestalost **manifestne urinarne infekcije** posljednjih godina kreće se oko 2,3 %, a **epididimitisa** <1%, pa se rutinska vazektomija ne preporučuje (većina urologa preporučuje samo perioperacijsku antibiotsku profilaksu). Komplikacija u obliku **krvarenja** javlja se kao primarno krvarenje (na dan operacije), a obično je posljedica neodgovarajuće hemostaze. Sekundarna krvarenja mogu se pojaviti dva do tri dana nakon operacije, a nekim slučajevima i mjesec dana nakon zahvata. U današnje vrijeme transfuziju krvi zbog krvarenja zahtijeva 7-8% bolesnika. **Tromboembolijske komplikacije** javljaju se vrlo rijetko zbog litotomijskog položaja i brze mobilizacije uz tromboprofilaksu kod rizičnih bolesnika. **Inkontinencija mokraćne** nastaje, u pravilu, zbog pogreške urologa i spada u najteže i najneugodnije komplikacije. U oko 1,2% bolesnika javljaju se blaže ili stresne inkontinencije, a "prave" (teške) inkontinencije javljaju se u oko 0,5% bolesnika. **Ozljeda mokraćovoda** najčešće se javlja kod ektopičnih ušća koja nisu bila uočena prije operacije ili kod velikih adenoma kad se vrlo teško uočavaju ušća.

U kasne poslijeoperacijske komplikacije ubrajaju se **striktura uretre** (2,5% bolesnika), **skleroza vrata mjehura** (2 - 3 % bolesnika), **retrogradna ejakulacija** (u većine operiranih bolesnika tj. čak do 90 %), i **smetnje potencije**, koja se javlja u 4% bolesnika.

Slika 1: Prikaz transuretralna elektroresekcije prostate



### 3. LASER

LASER je akronim od početnih slova engleskog naziva “Light amplification by stimulated emission of radiation”, što u slobodnom prijevodu znači pojačavanje svjetlosti stimuliranom emisijom zračenja. Nastao je kao rezultat novih spoznaja unutar kvantne optoelektronike koja predstavlja noviju granu fizike i temelji se na optici, spektroskopiji, kvantnoj mehanici i elektronici.

#### 3.1. Povijesni osvrt

Osnovni koncept stimulirane emisije zračenja potječe od teoretskih radova Alberta Einsteina iz 1917. godine. Nakon četrdesetak godina znanstveno-istraživačkog rada došlo se do temeljnih spoznaja o načinu kako izmijeniti termalnu ravnotežu u tvarima i omogućiti djelotvorno pojačanje zračenja procesom stimulirane emisije. Američki znanstvenici Townes i Schawlow (1953.) i ruski znanstvenici Basov i Prohorov (1954.) razradili su teoretski princip stimulirane emisije optičkog zračenja u molekulama plina. Charles Townes (1954.) izradio je napravu koju je prozvao MASER (prema engl. *Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation*). Godine 1958. Townes i Schawlow unapređuju MASER koji je radio u infracrvenom i vidljivom elektromagnetskom spektru. Na osnovi tih radova, Maiman je 1960. izradio prvi impulsni generator optičkog zračenja na principu stimulirane emisije od sintetičkog rubina i dao



mu naziv LASER (24). Townes, Basov i Prohorov dobili su 1964. godine Nobelovu nagradu za fiziku kao priznanje za znanstveni doprinos u području lasera. Godinu dana nakon Maimanove izrade rubinskog lasera, Javan, Benett i Herriott (1961.) izradili su prvi kontinuirani laser temeljen na smjesi plinova helija i neona. Pet godina kasnije (1966.), Sorokin i Lenkard proizveli su prvi tekući laser temeljen na organskim bojama što omogućuje kontinuirano podešavanje valne duljine laserskog zračenja. Fundamentalnim istraživanjima laserskog učinka u tvarima svih triju stanja dobivene su različite vrste lasera, pa je započelo brzo i dinamično tehnološko usavršavanje lasera kao sredstva s vrlo širokom primjenom u raznim područjima ljudskog djelovanja.

### **3.2. Fizikalne osnove lasera**

Lasersko zračenje je elektromagnetski val koji se širi brzinom svjetlosti u zrakopraznom prostoru (vakumu). Valna duljina određuje boju zračenja, a izražava se nanometrima (nm). Brzina širenja vala je konstantna i iznosi 300 000 km/sec, pa je frekvencija veća ako je valna duljina manja i obratno ( $\lambda f = c$ ). Laserski izvori zračenja su monokromatski i koherentni, jer su zračenja iste valne duljine i fazno povezana. Divergencija zračenja je zanemarivo mala, pa je stoga laserski snop paralelan. Monokromatičnost i paralelnost laserskog snopa omogućuju koncentriranje zračenja na vrlo malu površinu što nazivamo fokusiranjem. Izlazna snaga laserskog snopa uvjetovana je konstrukcijom i funkcionalnim svojstvima i izražava se u vatima (W). Gustoća snage označava snagu po jediničnoj površini, a izražava se  $W/cm^2$ . Budući da se laserski snop fokusira na relativno malenu površinu, gustoća snage je vrlo velika. Primjenjena laserska energija ovisi o snazi laserskog zračenja i duljini vremena i izražava se u džulima ( $J = \text{snaga od } 1W/\text{sekundi}$ ). Doza laserskog zračenja preračunata je energija na jedinicu površine. Često je nazivamo i gustoćom eneregije.

Osnovu lasera čini aktivna tvar (medij) čija se energetska razina podiže dovođenjem vanjske energije. Na taj način 50% atoma određenog medija postiže višu energetska razinu. Sukladno poznatom fizikalnom zakonu da svako tijelo teži prirodnom položaju najmanje energetske razine, pobuđeni atomi aktivne tvari emitiraju foton prilikom vraćanja na raniju energetska razinu. Emitirani foton pobuđuje susjedni atom na emisiju novog fotona, pa spontana emisija prelazi u stimuliranu. Kako je preko 50% atoma pobuđeno, nastaje prava lavina fotona jednake frekvencije, faze titranja i smjera. Upravo

zbog tih parametara laser je izvor monokromatskog, koherentnog, paralelnog snopa elektromagnetskog zračenja velike snage. Monokromatičnost je posljedica uniformnosti atoma laserskog medija. Kako aktivnu tvar čine atomi uniformne građe, jasno je da imaju i uniformnu energetska razinu, tako da nakon vraćanja na osnovnu energetska razinu oslobođena razlika energije (svjetlost) ima jednaku valnu duljinu. Stoga valnu duljinu laserskog zračenja određuje vrsta medija: za HeNe-lasere ona iznosi 632,8 nm, za laser NdYAG 1060 nm, a za CO<sub>2</sub>-laser 10600 nm. Osobitost laserske svjetlosti, koja se razlikuje od drugih izvora prirodne i umjetne svjetlosti, čini laser posebnim i važnim uređajem koji ima široku primjenu u znanosti i tehnologiji.

### 3.3. Vrste lasera

Lasere se dijele prema aktivnom materijalu, snazi, spektralnom području rada, načinu rada i pobude. Lasere se najčešće razlikuju prema agregatnom stanju aktivnog elementa u kojem se postiže inverzija energetskih razina. Prema toj podjeli razlikujemo sljedeće vrste lasera: kruti (čvrsti), poluvodički, tekućinski i plinski.

**Kruti (čvrsti) laseri.** Aktivni elementi krutih lasera su kristali. Prvi iz te skupine lasera bio je rubinski. Valna duljina laserske zrake nalazi se u vidljivom dijelu spektra ( $\lambda = 694,3$  nm). Danas se rubinski laseri rijetko primjenjuju zbog vrlo niske djelotvornosti pretvorbe energije pobuđivanja u lasersku (svega 5 %).

Za razliku od rubinskog, češće se i šire primjenjuje laser Nd:YAG čiju aktivnu tvar čini neodimijom dopiran kristal itrij aluminij granata (Y<sub>3</sub>Al<sub>5</sub>O<sub>2</sub>) koji emitira zraku valne duljine 1060 nm. Pobuda se postiže kontinuiranim ili impulsnim optičkim izvorom, najčešće ksenonskom bljeskajućom svjetiljkom. Snop laserskoga zračenja prenosi se optičkim valovodom. U kontinuiranom načinu rada pri većim snagama kristal NdYAG je potrebno hladiti zrakom ili vodom. Taj je laser jedan od najčešće primjenjivanih lasera u kirurgiji.

Najnoviji konstruirani laser je laser Ho:YAG čiju aktivnu tvar čini holmij, rijetki prirodni element u kristalu itrij aluminij granata. To je pulsni laser, valne duljine 2100 nm koji se danas široko primjenjuje u medicini, posebice u ortopediji i urologiji.

**Poluvodički laseri.** Lasersko zračenje nastaje protokom velike gustoće struje kroz poluvodič. Izborom pogodnoga poluvodiča mogu nastati laserska zračenja relativno male

snage na različitim valnim duljinama. Najčešće upotrebljavani laser u ovoj skupini je galij-arsenski laser (GaAs).

**Tekući laseri.** U tekućim laserima aktivni medij čini otopina organskih boja (tzv. DYE-laseri ) ili otopina rijetkih neorganskih spojeva zemlje (npr. europija, samarija ili terebija). Prednost pred ostalim laserima jest mogućnost podešavanja valne duljine laserskog zračenja. Valna duljina ovisi o sastavu i koncentraciji otopine koju je moguće mijenjati tako da postoji široki spektar valnih duljina unutar istoga aktivnog medija (340-1200 nm). Nedostatak im je nestabilnost otopine (medija), jer nakon nekoliko mjeseci u otopini nastaju talozi koji smanjuju lasersko zračenje. U medicini se tim laserima koristimo u dijagnostici tumora i fotodinamskoj terapiji.

**Plinski laseri.** Njihov je aktivni element u plinovitom stanju, a obično se radi o smjesi različitih plinova kao što su ugljični dioksid (CO<sub>2</sub>), helij-neon (He-Ne) i argon (Ar). Laseri s CO<sub>2</sub> imaju široku primjenu u medicini. Laserski snop rezultat je pobude ugljičnoga dioksida pomiješanog s helijem i dušikom. Viša energetska razina aktivne tvari postiže se prolaskom električne energije. Usmjeravanje i vođenje snopa, koji ima valnu duljinu 10600 nm, za sada nije moguće optičkim valovodom, već posebnim sustavom ogledala, tzv. zrcalnim manipulatorom. Helij neon (HeNe)-laser pripada grupi niskoenergetskih lasera s valnom duljinom 632,8 nm i koristi se kao zraka vodilja u laserima tipa Nd:YAG, Ho:YAG i CO<sub>2</sub>, budući da njihove valne duljine ne pripadaju vidljivom nego infracrvenom dijelu spektra. Aktivna tvar u argonskom laseru (Ar) jest ionizirani argon. Valna duljina je 488 i 514 nm, a lasersko zračenje moguće je prenositi optičkim valovodom. Mogućnost spajanja na mikromanipulator i endoskop koristi se u oftalmologiji i fotokoagulaciji endoskopskim putem. Ultravioletni laseri (EXCIMER) jesu posebni plinski laseri koji zrače ultravioletnim spektrom (ArF 193 nm, KrF 248 nm, XeCl 308 nm, XeF 351 nm). Odlikuju se vrlo visokom energijom zračenja i malim termičkim učinkom pri interakciji s tkivom. Za sada se najviše koriste u genetičkim istraživanjima, u kradiovaskularnoj kirurgiji za uklanjanje vaskularnih plakova, te u oftalmologiji kod oboljenja rožnice (25, 26).

### **3.4. Interakcija laserskog zračenja s biološkim tkivima**

Biomedicinska uporaba lasera temelji se na interakciji laserskoga zračenja s biološkim tkivom. Procesi koji se odvijaju pri interakciji laserskog zračenja s tkivom mogu se

objasniti s pomoću četiri fizikalne pojave: **a) transmisijom** - slobodnim prosvjetljavanjem tkiva bez gubitka energije; **b) disperzijom** - rasipanjem energije u tkivima; **c) refleksijom** - odbijanjem laserskoga zračenja s površine tkiva; i **d) apsorpcijom** - pretvaranjem laserskoga zračenja u drugi oblik energije. Apsorpcija zračenja jest osnova za kiruršku primjenu lasera. Laserska zraka koja se apsorbira u tkivima pretvara se u toplinsku energiju, pa na taj način nastaju pojave koagulacije i vaporizacije tkiva. Količina apsorbirane energije i oblik interakcije s tkivima ovise o nekoliko činitelja, od kojih su najvažniji valna duljina zračenja, snaga lasera, način rada lasera i optička svojstva tkiva (27).

**Valna duljina zračenja.** Različite valne duljine laserskog zračenja imaju različite apsorpcijske osobine u tkivima, što ovisi i o vrsti (sastavu) tkiva. Infracrvena svjetlost bolje prodire od vidljivog dijela spektra, pa stoga NdYAG laserska zraka ( $\lambda = 1060$  nm) prodire dublje u tkiva nego argonska ( $\lambda = 488$  nm). Međutim, povećanja valne duljine laserskog zračenja dovodi do slabije prodornosti u tkiva: laserska zraka HoYAG ( $\lambda = 2100$  nm) znatno manje prodire u tkiva od zrake lasera NdYAG, dok zračenje CO<sub>2</sub>-lasera ( $\lambda = 10600$  nm) gotovo da i ne prodire u tkiva.

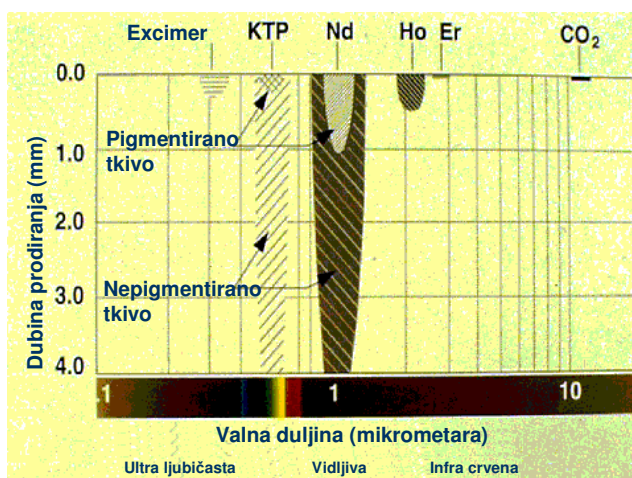
**Snaga lasera.** Učinak laserskoga zračenja uvjetovan je energijom koju tkivo apsorbira. Budući da je energija snaga u jedinici vremena, to je očito da primijenjena energija raste sa snagom lasera i duljinom izlaganja laserskom zračenju. Međutim, vrlo je bitan i promjer laserske zrake, pa se zbog uspoređivanja učinaka uveo pojam *gustoće energije* (energija na jedinicu površine, J/cm<sup>2</sup>). Razumljivo je da na tkiva nemaju isti učinak zračenja snage 1000 J sa zrakom promjera 1 mm ili 0,1 mm.

**Način rada.** Laseri mogu raditi kontinuirano, pulsno ili na temelju tzv. Q prekapčanja (radi se o posebnom obliku pulsnog načina rada s vrlo kratkim pulzacijama do milijuntinke sekunde). Za biološki učinak laserskoga zračenja nije važna samo sveukupna energija koja se primjenjuje na tkiva, već je važno i vrijeme (interval) u kojem se ona primijeni.

**Optička svojstva tkiva.** Djelovanje laserskoga zračenja na tkiva potpuno je drugačije od djelovanja na uniformno građen materijal, kao što je metal. Na primjer, visokoenergetski pulsni rubinski laser s gustoćom snage 198 W/cm<sup>2</sup> buši bakreni lim, dok na kožnoj bradavici izaziva samo blagi površinski učinak (27). Heterogena građa tkiva uvjetuje i

različita optička svojstva tkiva. Prodor i apsorpcija energije ovise o vrsti tkiva i o valnoj duljini laserskog zračenja. Poznato je da patološke promjene u tkivu mijenjaju dubinu prodora zračenja, pa tako zračenje najslabije prodire u zdravu jetru, dublje u cirotičnu, a najdublje u tumorsko tkivo jetre (28). Poznavanje svih navedenih činjenica omogućuje najsvrsishodnije korištenje pojedinih vrsta lasera.

Slika 2: Prodiranje pojedinih vrsta laserskih zraka u tkivo



### 3.4.1. Vrste interakcija tkiva i laserskog zračenja

Pod utjecajem laserskoga zračenja u tkivu se javljaju fotokemijski, toplinski i ionizacijski učinci.

**Fotokemijski učinak (kemijsko-metaboličke promjene).** Odavno je poznato da svjetlo djeluje na metaboličke procese živog organizma, sudjeluje u fotosintezi, proizvodnji vitamina D i sl. Metabolički učinci rezultat su djelovanja neštetnog zračenja niske energije. Ti se učinci danas najviše koriste u fotodinamičkoj dijagnostici i terapiji tumora, te u biostimulaciji cijeljenja rana i trofičkih ulcera (29,30).

**Toplinski učinak.** Djelovanje lasera, kao prijenosnika energije koja se pretvara u toplinsku energijum, danas se najčešće primjenjuje u medicini. Učinak je proporcionalan količini apsorbirane energije: od blagog zagrijavanja tkiva (za primjenu u spajanju ili “zavarivanju” tkiva) do koagulacije tkivnih bjelančevina i (u eksteremnom obliku) eksplozije tkiva. Pri tome razlikujemo pojave denaturacije (40-70°C), koagulacije (70-

85°C), vakuolizacije (85-100°C), vaporizacije (>100°C), te karbonizacije tkiva (>400°C) (31).

**Ionizacijski učinak.** To je netoplinско, nelinearno razaranje tkiva izazvano velikim gustoćama energije i pulzacijskim načinom rada kada kratkoća trajanja impulsa ne dopušta postizanje toplinskog učinka već nastaje kidanje kemijskih veza staničnih molekula fotodisocijacijom ili fotorazaranje, tj. kidanje atoma udarima energije (32). Ti učinci mogu se postići samo laserima velike snage.

### **3.5. Primjena lasera**

Laser je jedan od temeljnih izuma koji obilježava doba moderne tehnologije. Primjena lasera je velika, od metalurgije (za rezanje čelika), komunikacijskih sustava (svjetlovodna vlakna), do spektroskopije i holografije. Ipak, laseri se najviše rabe u biomedicini i u vojne svrhe (33).

#### **3.5.1. Primjena lasera u biomedicini**

Zbog raznolikosti interakcije laserskog zračenja i bioloških struktura, primjena lasera u biomedicini vrlo je široka i uključuje brojne dijagnostičke i terapijske postupke.

##### **3.5.1.1. Laserska dijagnostika**

U dijagnostici se primjenjuju samo laseri niskih energija, jer se njihovo zračenje reflektira, apsorbira ili ponovno emitira u obliku fluorescencija bez promjene u biološkim tkivima. Primjenjuju se u biologiji i medicini, u mikrodijagnostici na razini molekula i atoma, u makrodijagnostici na staničnoj i tkivnoj razini (34). Laserska spektroskopija i spektrofluorometrija dovedena je gotovo do savršenstva, tako da je moguća detekcija bioloških uzoraka do pojedinačnih atoma. Nadalje, zbog mogućnosti fokusiranja laserske zrake, moguća je mikrospektralna analiza biološke tvari. Ako se visokoenergetsko zračenje fokusira na biološko tkivo, moguće je vaporizirati  $1\mu\text{m}^3$  uzorka i u njemu odrediti molekularni ili atomski sastav (35). Laserska holografška mikroskopija daje trodimenzionalni prikaz površine  $1\mu\text{m}$  i dubine  $40\mu\text{m}$  (35). S obzirom na to da je laser izvor monokromatskog, koherentnog zračenja, omogućuje mjerenje položaja, brzine i oblika raznih bioloških struktura. Ta se činjenica već niz godina koristi za razlučivanje vrsta stanica u protočnom citometru. Na istom se načelu temelji i rad laserskog Dopplerova mjerača protoka kojim je moguće mjeriti brzinu protoka u kapilarama mrežnice (34).

Klinička dijagnostička primjena lasera veoma je značajna u otkrivanju ranih stadija zloćudnih tumora bronha i mokraćnog mjehura uz sistemsku primjenu fotosenzibilizirajućih agensa, osobito hematoporfirinskog derivata-HpD (36, 37). Nakon intravenske primjene, te se tvari nakupljaju i zadržavaju u tumorskom tkivu. Izlaganjem ultravioletnom zračenju (valne duljine 406,7 nm ) tumorsko tkivo postaje vidljivo jer fluorescira crvenom bojom i na taj se način razlikuje od okolnoga zdravog tkiva. Tim se postupkom mogu otkriti vrlo mali tumori, koji bi se uobičajenim endoskopskim pregledima zasigurno propustili dijagnosticirati (carcinoma in situ) ( 37,38 ). Iako se sličan učinak može postići i inkohherentnim svjetlom, laser ima prednost jer se pri prijenosu svjetlovodom endoskopskim putem ne gubi intenzitet svjetla, pa se jednim kratkim impulsom postiže dovoljna doza zračenja čime se izbjegava učinak svjetlosti na sekundarne kemijske reakcije (34).

### **3.5.1.2. Terapijska primjena lasera**

Terapijsku primjenu određuje količina energije koja se apsorbira u biološkom tkivu. Ako se koristi toplinski učinak laserskog zračenja, govori se o toplinskim (termalnim) laserima, za razliku od netoplinskih (netermalnih) lasera, čija mala količina energije izaziva fotokemijske promjene pa se koristi u fotodinamičkoj terapiji tumora i biostimulaciji.

#### **3.5.1.2.1. Primjena termalnih lasera**

Pretvorba energije laserskog zračenja u biološkom tkivu u toplinsku energiju koristi se u različitim kirurškim granama medicine. Budući da termalni učinak varira od blagog zagrijavanja do koagulacije i vaporizacije, primjena je raznolika.

**Fotokoagulacija.** Koagulacijski učinak apsorbirane laserske energije jedan je od najstarijih učinaka koji se koristi u kliničkoj praksi. Prva klinička primjena fotokoagulacije argonskim laserom započela je 1969. godine, a samo dvije godine kasnije započela je i komercijalna proizvodnja tih lasera (39). Iako se taj učinak najviše primjenjuje u oftalmologiji, brojne su i druge primjene, osobito u endoskopskoj fotokoagulaciji krvarećih lezija gastrointestinalnog trakta i u liječenju želučanog i duodenalnog vrieda (40,41). Selektivnost fotokoagulacije očituje se pri liječenju benignih vaskularnih lezija kože, jer lasersko zračenje prolazi kroz normalno tkivo iznad lezije bez značajnije apsorpcije. Pri tome izaziva koagulaciju proširenih krvnih žila zbog

uporabe zračenja valne duljine u području apsorpcijskog maksimuma oksihemoglobina (42).

**Rezanje i destrukcija tkiva.** Toplinsko razaranje tkiva visokoenergetskim laserima temelji se na vaporizacijskom učinku. Naime, apsorbirana energija laserskoga zračenja oslobađa visoku temperaturu u tkivu. Pri tome stanice prskaju zbog nagloga prijelaza iz tekućeg u plinovito agregatno stanje (treba se sjetiti da 70% volumnog sadržaja stanica čini voda). Budući da je lasersku zraku moguće fokusirati na vrlo malenu površinu i pri tom odrediti širinu i dubinu tkivnog oštećenja, laser predstavlja precizan uređaj kojim je moguće ostvariti nadzirano uništenje tkiva.

U nastojanju da se istodobno postigne i rezanje i hemostaza, zagovarana je široka uporaba lasera u kirurgiji. Međutim, uporaba lasera kao "svjetlosnog skalpela" za inciziju kože nije se pokazala opravdanom (43). Rad lasera znatno je sporiji, a zarastanje rana je duže. Najčešće korišteni kirurški laseri (CO<sub>2</sub>, argonski i Nd:YAG) ne preporučuju se za inciziju kože. Naime, zbog svoje valne duljine CO<sub>2</sub> laser prodire vrlo plitko u kožu (0,2 mm) i ne zaustavlja krvarenje žila promjera većih od 2 mm, dok argonski i Nd:YAG-laser, zbog jačega koagulacijskog učinka i većeg rasapa energije, stvaraju veće područje nekroze od ruba incizije.

Danas se laser najčešće koristi u ablaciji tumorskog tkiva. Uz ablaciju tkiva postiže se i vrlo dobra koagulacija, pa se uz odstranjivanje tkiva postiže i hemostaza. S druge strane, razvojem mikroskopskih i endoskopskih laserskih sustava omogućena je velika preciznost u radu i pogodnosti koje standardnim kirurškim tehnikama nisu bile moguće (44). Tako se laserima izvode brojne mikrokirurške operacije u otorinolaringologiji, oftalmologiji i neurokirurgiji (26,45-46). Nadalje, vrlo je raširena uporaba lasera endoskopskim putem u ablaciji tumora respiratornog, digestivnog i urinarnog trakta (43,47,48).

**Laser angioplastika i litotripsija** Prijenos laserske zrake svjetlovodnim vlaknima omogućio je i uvođenje laserske zrake u krvne žile. Stoga se laser danas koristi i za razaranje aterosklerotičnih plakova i rekanalizaciji krvnih žila te angioplastiku koronarnih arterija (25,49). Pretvorba laserske energije u mehaničku koristi se i u laserskoj litotripsiji. Visoka gustoća energije kratkoga pulsa prenosi se svjetlovodom do kamenca u



bilijarnom ili urinarnom traktu, pri čemu, uslijed ekstremno visoke topline i ekspanzije plazme, nastaju udarni valovi koji razaraju konkrement (50-53).

**Spajanje ("zavarivanje") tkiva.** Posljednjih godina sve veću pozornost izaziva blaži termalni učinak laserskoga zračenja koji se koristi u spajanju ("zavarivanju") tkiva. Određena gustoća energije laserskoga zračenja izaziva toplinski učinak koji ne izaziva destrukciju tkiva, već strukturne promjene tkivnih proteina, osobito kolagena (54). Prva iskustva laserskoga spajanja tkiva stečena su na vaskularnim anastomozama (55). Iako neki navode prednosti tih vaskularnih anastomoza pred klasičnom šavnom tehnikom (na primjer, izostanak nastanka aneurizmi, suženja lumena i reakcije stranog tijela), zasad još ne postoji šira klinička primjena laserskih anastomoza (56). Razlog tome je složenost i skupoća opreme, teško izvođenje i potreba dodatnih šavova za potpunu hemostazu (57). Do sada su se u zavarivanju tkiva koristili argonski, CO<sub>2</sub>- i Nd:YAG-laseri. U literaturi je opisano i uspješno spajanje krvnih žila, živaca, jajovoda, sjemenovoda i tankoga crijeva (58,59).

#### **3.5.1.2.2. Primjena netermalnih lasera**

Ovi laseri imaju znatno manju snagu od termalnih, pa apsorbirana količina energije u tkivu ne izaziva njegovo zagrijavanje. Primjenjuju se u dijagnostici i fotodinamičkoj terapiji tumora i biostimulaciji degenerativnih i reparacijskih procesa.

##### **Fotodinamička terapija**

Fotodinamička terapija (FDT) je nov način liječenja malignih tumora. Nakon intravenske primjene fotosenzibilizirajućeg agensa (hematoporfirin-Hp, ili njegovog derivata - HpD), uočava se njegovo jače nakupljanje u embrionalnom, traumatiziranom, a posebice u tumorskom tkivu. Nakon 48-72 sata od primjene HpD, tkivo se osvijetli crvenom svjetlošću valne duljine 630 nm. To uzrokuje nekoliko fotokemijskih reakcija u kojima se oslobađa elementarni kisik, a on ima izraženo citotoksičko djelovanje. Naime, već 30 minuta nakon izlaganja svjetlu stanica koje sadrže HpD uočljiva je potpuna destrukcija mitohondrija i lizosoma, a nakon toga razgradnja citoplazme i stanice (60). U reakciji se oslobađaju slobodni kisik, hidroksilni radikali i superoksid, a svi oni pridonose oštećenju tkiva.

Iako nije razjašnjen mehanizam djelovanja FDT in vivo, metoda se već više od 20 godina koristi u klinici. Prvi klinički rezultati liječenja malignih tumora objavljeni su već 1976.,

kada su Kelly i Shell iznijeli svoje rezultate liječenja površinskih tumora mokraćnog mjehura (37). Nakon toga počinje primjena FDT u liječenju drugih vrsta i lokalizacija tumora. Ipak, najbolji rezultati postignuti su u liječenju karcinoma mokraćnog mjehura, bronha, kože i jednjaka (61-64). Unatoč obećavajućim rezultatima, FDT nije ušla u široku kliničku primjenu. Uzroke tome treba tražiti u nedovoljnoj selektivnosti porfirinskih spojeva i toksičkim reakcijama u zdravom tkivu, osobito kože. Naime, fotosenzibilizacija kože nakon primjene FDT traje 6-8 tjedana, pa se bolesnici ne smiju izlagati direktnom sunčevom svjetlu zbog mogućnosti nastajanja teških opekline (29). Nadalje, još uvijek nije utvrđena "prava" doza fotoaktivatora kao i laserskoga zračenja, tako da se HpD koristi u dozi 2,5-5 mg/kg, a doza laserskog zračenja varira od 25 do 600 J/cm<sup>2</sup>.

### **Biostimulacija laserima niske energije**

Laseri niske energije već se dugi niz godina godina upotrebljavaju u liječenju različitih degenerativnih bolesti lokomotornog sustava praćenih bolom, od sportskih ozljeda do degenerativnih i neuroloških poremećaja (neuralgije, pospješene cijeljenja rana, ulkusi, dekubitusi kože, lezije usne šupljine i grlića maternice) (65-72).

#### **3.5.2. Primjena lasera u urologiji**

Laser se u urološkoj praksi koristi za liječenje gotovo svih dijelova urogenitalnog trakta, od bolesti vanjskih genitalija do pijelokalicealnog sustava.

**Vanjske genitalije.** U indikacije za lasersko liječenje ubrajaju se ove bolesti: a) kožne lezije uzrokovane humanim papilloma-virusima (condylomata acuminata, Buschke-Löwensteinov tumor, široki kondilomi, "bowenoidne lezije", penilna intraepitelna neoplazija) (73,74), b) premaligne lezije i leukoplakije (Bowenova bolest, Queyratova erythroplasia, lichen sclerosus et atrophicus) (75); c) molluscum contagiosum (75); i d) karcinom penisa. U liječenju karcinoma penisa rabi se Nd:YAG laser, ali samo u početnim stadijima bolesti - Tis, Ta, T1 (T2 je diskutabilan), N0 i M0. U tim stadijima laser ima prednost pred konvencionalnim kirurškim liječenjem zbog očuvanja penilne funkcije uz izvrstan kozmetički rezultat, a djelotvornost je vrlo visoka (76). Upotrebljava se i CO<sub>2</sub>-laser kad su promjene površinske i kad je potrebna samo površinska (do 1 mm) vaporizacija i karbonizacija, te Nd:YAG laser kad je potrebna dublja penetracija u tkivo (do 8 mm je zona koagulacijske nekroze pri snazi od 10 do 20 W).

**Mokraćna cijev.** Laser se rabi za liječenje tumora (najčešće šiljatih kondiloma), te za liječenje primarnih ili sekundarnih striktura, skleroze vrata mjehura, anastomotskih striktura nakon radikalne prostatektomije te valvula. Rabe se nekontaktne sonde lasera velike termalne aktivnosti (Nd:YAG-laser, CO<sub>2</sub>-laser i Argonski laser). Pojedini laseri omogućuju kontaktno rezanje tkiva ( Excimer, Erbium, Nd:YAG, KTP i Ho:YAG laser ) (77).

**Mokraćni mjehur.** Rabi se uglavnom Nd:YAG-laser snage 20-40W. Najčešće se primjenjuje u liječenju karcinoma mokraćnog mjehura. Kao kurativni način liječenja primjenjuje se za liječenje početnih stadija tumora mokraćnog mjehura (Ta-T2, N0 i M0). Kao palijativni način liječenja uznapredovalih stadija tumora (T3-T4, N1-N4, Mx/M1 ) koristi se osobito u hitnim stanjima (krvarenjima), kada hemostaza predstavlja prednost u odnosu na druge načine liječenja (78).

Osim u liječenju karcinoma, NdYAG-laser se koristi u liječenju benignih tumora, hemangioma, endometrioze mokraćnog mjehura, šistosomijaze, intersticijalnog i radijacijskog cistitisa i nodoznog arteritisa (79).

Pored navedenih indikacija, danas se laser koristi i u liječenju vrlo velikih kamenaca mokraćnoga mjehura. Naime, kada veličina kamenca onemogućava ostale uobičajene metode liječenja (mehanička, ultrazvučna, elektrohidraulična i pneumatska litotripsija), kamenac se vrlo uspješno može riješiti holmiumskim laserom (52).

**Mokraćovod.** Pulsni Nd:YAG-laser rabi se u liječenju tumora mokraćovoda prvenstveno u slučaju solitarnog bubrega, bubrežne insuficijencije, transplatanog bubrega, bilatrelanih tumora te endemske nefropatije. Kao kurativni vid liječenja primjenjuje se za početne stadije bolesti (Ta-T2, N0 i M0 ). U podmaklim stadijima bolesti koristi se kao palijativni tretman u kombinaciji s kemoterapijom ( 80,81).

Laser se također može koristiti u liječenju suženja mokraćovoda, iako se tu češće rabe druge metode liječenja ( npr. dilatacija, "Acucise") (81).

Danas je sve češći tretman kamenaca mokraćovoda pulsnim laserima (aleksandritni laser, pulsni Nd:YAG-laser i tzv. "dye"-laser). Kao najnovija metoda liječenja posljednjih se godina sve više rabi holmiumski laser (81,82 ).

**Pijelokalicealni sustav.** Kako je navedeno u odlomku o tretmanu mokraćovoda, laser se prvenstveno rabi za liječenje tumora. Međutim, ovdje je uz otvoreni pristup moguć i

pristup s pomoću fleksibilnog ureterorenoskopa i perkutanog nefroskopa (80). Perkutanim putem vrlo se uspješno upotrebljava Ho:YAG-laser u liječenju kamenaca pijelokalicealnog sustava (81).

**Prostata.** Krajem 70-ih godina tiskani su prvi radovi o uporabi Nd:YAG lasera u liječenju prostatičnih bolesti (83,84). Kasnije se Nd:YAG-laser najčešće koristio u liječenju karcinoma prostate (85-88), nakon čega je došlo do razvoja različitih tehnika uporabe lasera (89-91). Danas se laser uobičajeno upotrebljava u liječenju adenoma prostate, a u liječenju karcinoma prostate uglavnom se koristi kao palijativna metoda. Laser kao moguća kurativna metoda još uvijek je tema mnogih istraživanja.

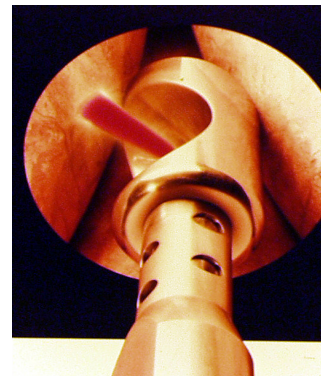
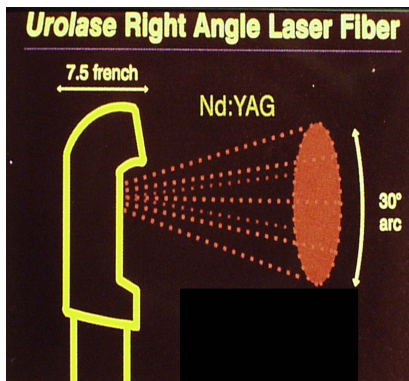
**3.5.2.1. Laser u liječenju adenoma prostate.** Cilj liječenja bolesnika s adenomom prostate jest riješiti opstrukciju izazvanu uvećanom prostatom i umanjiti ili sasvim riješiti tegobe koje muče bolesnika. Većina današnjih operativnih tehnika odnosi se bilo na primarnu (izravnu) ili na sekundarnu ablaciju prostatičnog tkiva. Transuretralnim pristupom primjenjuju se kontaktne sonde za inciziju ili resekciju prostate, te nekontaktne sonde za vaporizaciju prostate. Navedene metode mogu se primijeniti u različitim kombinacijama. U uporabi su sljedeće tehnike:

- a) transuretralna incizija prostate (TUIP)( 92,93 );
- b) transuretralna laserska prostatektomija vođena ultrazvukom (TULIP)(16,94-98);
- c) vizuelna ili endoskopska laserska ablacija prostate (VLAP, ELAP, LAP);
- d) intersticijalna laserska koagulacija/termoterapija (ILC, LITT, ITT) ( 18,99-103);
- e) transuretralna laserska ablacija/vaporizacija prostate (TULAP, TUEP )(104-107);
- f) kontaktna laserska ablacija prostate (CLAP)(19,108-111);
- g) transuretralna balonska laserska prostatektomija (112);
- h) ablacija/resekcija prostate s pomoću holmijumskog lasera (HoLAP, HoLRP ) (113-118) i
- i) kombinirana endoskopska laserska ablacija prostate (CELAP) (119 ).

### 3.5.2.2. Vizuelna (endoskopska) laserska ablacija prostate

Mogućnost uporabe lasera u liječenju bolesnika s adenomom prostate istražuje se već dugi niz godina, ali su rezultati bili manjkavi sve do prije nekoliko godina. Naime, glavna poteškoća u uporabi lasera u liječenju bolesnika s adenomom prostate jest činjenica da je laserski snop vrlo uzak čime se onemogućava pristup većoj površini tkiva. Međutim, nakon što je krajem 80-ih proizveden specijalni "Right Angle Laser Fiber", a zatim i njegove modifikacije, mogućnosti liječenja značajno su se poboljšale (120). Radi se o posebno napravljenoj laserskoj sondi čiji snop izlazi pod kutom od 90 stupnjeva u odnosu na os i ima divergenciju snopa od 30 stupnjeva. Tako je omogućeno liječenje i većih adenoma prostate, jer urolog u kratkom vremenu može tretirati veću površinu tkiva, s odličnim pregledom operacijskog polja.

Slika 3: "Urolase Right Angle Laser Fiber" te prikaz za vrijeme rada u prostatičnoj uretri

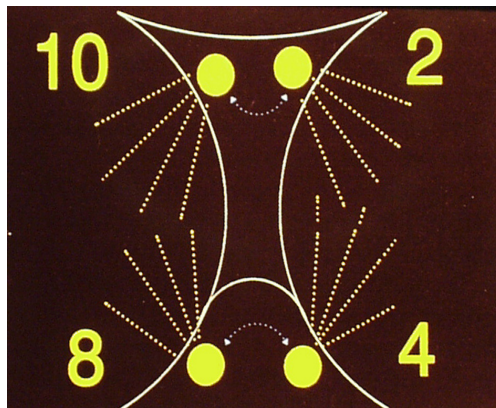


Prva istraživanja te metode provedena su krajem 80-ih godina prošlog stoljeća na psima i rezultati su bili izvrsni (121-3). To je pridonjelo da se 90-tih godina prošlog stoljeća u Australiji i SAD-u metoda primijeni i u čovjeka (124-30). Od tada se metoda širi diljem razvijenih uroloških klinika. U literaturi se spominje kao endoskopska laserska ablacija prostate (ELAP, LAP) ili vizualna laserska ablacija prostate (VLAP).

Sama tehnika rada prilično je jednostavna. Prije zahvata učini se uretrocistoskopija, procijeni veličina lateralnih režanja te medijalnog režnja i donese konačan sud o broju i položaju točaka na koje će se djelovati laserskim snopom. Prije početka zahvata obično se postavlja minimalna suprapubična cistostoma, iako se može raditi i bez nje, ali se tada nakon zahvata obvezatno postavlja urinarni kateter. Kod manjih prostata djeluje se na

četiri točke (u položajima na 2, 4, 8 i 10 sati u prostatičnoj uretri), kod većih adenoma na šest ili osam točaka, a kod jako velikih prostata primjenjuje se zračenje na 12 ili 16 točaka. Izraženi medijalni režanj može se tretirati na jednoj, dvije ili tri točke, a ako nije naznačen, vrat mjehura se razreže kontaktnom laserskom sondom od trigonalnog nabora do kolikulusa. U početku se na svaku točku djeluje tijekom 60 sekundi snagom od 60W, pa se po svakoj točki primijeni 3600 Joula (131-3). Međutim, kasnija su istraživanja nedvojbeno pokazala da laserska zraka prodire dublje u tkivo adenoma prostate ako se smanji snaga, a produži vrijeme djelovanja, tako da se danas po jednoj točki rabi snaga od 40W tijekom 90 sekundi (134-6). To rezultira većom zonom nekroze tkiva i stvara se veći defekt u prostatičnoj uretri. Na samoj površini tkiva nastaje zona koagulacijske nekroze, a u dubini dolazi do embolizacije krvnih žila, što rezultira kasnijom nekrozom i "otplavlivanjem" nekrotičnog tkiva. Zbog visoke temperature razvija se nakon zahvata otok tkiva što zahtijeva drenažu urina (suprapubičnom cistostomom ili urinarnim kateterom). Konačan rezultat operacije vidljiv je tek tri mjeseca nakon zahvata.

Slika 4: Djelovanje laserskog zračenja na četiri točke prostate



#### 4. USPOREDBA TEHNIKA TURP I VLAP

S obzirom na to da je TURP najproširenija i najprihvatljivija metoda operacije adenoma prostate, uobičajeno je da se rezultati novih metoda liječenja adenoma prostate uspoređuju upravo s tom metodom. Prema dosadašnjim rezultatima, ELAP ima značajnih

prednosti nad tehnikom TURP, o čemu svjedoče rezultati iz literature (137-40). Mortalitet nakon primjene TURP-a iznosi 0,2%, dok je nakon zahvata ELAP do sada zabilježen samo jedan smrtni slučaj. Udio komplikacija nakon TURP-a iznosi 18 %, a nakon ELAP-a 9%-13, što je djelomično uvjetovano i trajanjem zahvata. Naime, TURP traje 30-60 minuta (najduže 90), dok ELAP obično traje 10-15, a rijetko 30 minuta. Tijekom i nakon TURP-a uvijek se javlja krvarenje koje zahtijeva transfuziju krvi u 6,4% bolesnika. Krvarenje nameće potrebu ispiranja mjehura, što povećava mogućnost infekcije. Kod ELAP-a krvarenja nema ili je zanemarivo (uvjetovano endoskopskom manipulacijom instrumentom): zbog "beskrvne" metode moguće je operirati bolesnike koji su pod antikoagulantnom terapijom, bolesnike s raznim hematološkim poremećajima ili HIV+ bolesnike. U 2% bolesnika zahvat TURP može dovesti do razvoja tzv. "TUR-sindroma", koji nastaje zbog apsorpcije tekućine. On dovodi do različitih komplikacija, uključujući i letalni ishod. S obzirom na kratkoću trajanja i na činjenicu da tijekom zahvata nema krvarenja, taj sindrom nije zabilježen tijekom zahvata ELAP. Retrogradna ejakulacija javlja se u 90% slučajeva nakon zahvata TURP, a samo u 10-30% bolesnika nakon zahvata ELAP. To je osobito važno za mlađu populaciju koja je seksualno aktivna. Skleroza vrata mjehura ili striktura uretre mogu se razviti u 5-10% bolesnika nakon zahvata TURP, odnosno u 2-6% bolesnika nakon zahvata ELAP.

Vrlo rijetka, ali zato izuzetno teška komplikacija zahvata TURP jest inkontinencija urina koja nastaje "greškom urologa", a javlja se u blažem (2% bolesnika) i teškom obliku (0,5%). Mogućnost nastanka te komplikacije nakon zahvata ELAP praktički i ne postoji. Treba dodati da je jedna od najvećih prednost ELAP-a kratka hospitalizacija i brži oporavak bolesnika: nakon zahvata ELAP bolesnici se mogu isti dan otpustiti kući, dok nakon zahvata TURP hospitalizacija traje između pet i sedam dana. Sveukupni oporavak bolesnika koji su podvrgnuti zahvatu TURP traje 4-6 tjedana, dok oporavak nakon zahvata ELAP traje samo 1-2 tjedna.

Važno je spomenuti i prednosti koje ELAP pruža liječnicima u odnosu na TURP. Obuka je znatno kraća, pa nakon što liječnik upozna načela rada lasera, on vrlo brzo svlada i samu tehniku zahvata. Zahvat TURP je zahtjevniji, pa u cilju svladavanja tehnike liječnik mora samostalno izvesti najmanje 50-100 zahvata.

Mora se ipak napomenuti da TURP još uvijek ima nekoliko prednosti u odnosu na zahvat ELAP, posebice u bolesnika s opstruktivnim tegobama ili potpunom retencijom urina (141-2). Naime, ubrzo nakon zahvata TURP (tj. nakon vađenja katetera, što obično traje 2-3 dana ) tegobe nestaju ili se bitno smanjuju, dok je nakon zahvata ELAP taj proces mnogo sporiji. I poslijeoperacijsko nošenje cistostome ili katetera također je znatno duže nego nakon zahvata TURP. Kod manjih prostata taj period iznosi pet do šest dana, a kod velikih prostata i do mjesec dana. Nakon tri mjeseca rezultati zahvata ELAP i TURP su podjednaki u odnosu na IPSS, QL, uroflow i količinu rezidualnog urina.

Jedan od bitnih nedostataka ELAP-a je nemogućnost patohistološke analize tkiva. Iako se prije operacije učine pretrage za isključenje malignog procesa (PSA, digitorektalni pregled, transrektalni UZV), prisutnost malignoma ne može se isključiti. Nadalje, jedan od važnih nedostataka ELAP-a jest i skupoća opreme: laser je desetak puta skuplji od opreme za TURP, a potrošni materijal (laserska sonda) više je desetaka puta skuplja od omčice za rezanje koja se rabi pri zahvatu TURP.

## **5. IMUNOLOŠKA REAKCIJA ORGANIZMA NA OZLJEDU**

Svaka ozljeda, zahvat ili bilo koja druga trauma predstavlja stresni događaj za organizam. U odgovoru na stresni događaj ("stresor") organizam razvija složene lokalne i sustavne mehanizme prilagodbe (143-151). Lokalne promjene na mjestu oštećenja tkiva (npr. operacije) praćene su sustavnim neuroendokrinim i metaboličkim promjenama, kao i promjenama funkcijskih parametara imunološkog sustava (152-154).

### **5.1. Metaboličke i neuroendokrine promjene**

Sustavnu reakciju organizma na ozljedu karakteriziraju brojne metaboličke promjene. One se mijenjaju u odnosu na vrijeme ozljeđivanja (operacije), pa općenito možemo razlikovati početnu ili hipodinamsku, i kasniju ili hiperdinamsku fazu metaboličkih promjena. Tu je dinamiku uočio Cuthberthson još 1942. godine, koji je ranu fazu nazvao "ebb" (engl. oseka, slabost ), a kasniju fazu "flow" (engl. tok, plima) (155). Brojne su spoznaje o promjenama nakon ozljede ili operacije, no o razlozima njihovog nastanka poznato je znatno manje činjenica. Iako se te promjene smatraju važnim homeostatskim mehanizmom odgovora organizma na ozljedu, dvojbeno je jesu li one uvijek korisne, osobito nakon zahvata (156-7).



Poremećaj metabolizma ugljikohidrata u ranoj fazi očituje se hiperglikemijom zbog pojačane glikogenolize i glukogeneze u jetri pod utjecajem “kataboličkih” hormona (kateholamina, kortizola i glukagona), ali i smanjenog izlučivanja inzulina (154). Lipidni metabolizam obilježava pojačana lipoliza potaknuta djelovanjem “kataboličkih” hormona, dok promjena metabolizma proteina nastaje zbog poremećena odnosa njihove sinteze i razgradnje (154). Dok ozljedu obilježava povećani katabolizam proteina, osobito nakon opsežnih opekline, elektivne operacije praćene su pojačanom inhibicijom sinteze proteina i njihovom znatno slabijom kataboličkom reakcijom (158-159). Negativna ravnoteža dušika kao posljedica promjena metabolizma proteina izazvana je proteolizom i mobilizacijom aminokiselina iz skeletnih mišića te pojačanom aktivnošću jetre koja te aminokiseline koristi u sintezi proteina akutne faze i ureje te u glukoneogenezi (160). Unatoč pojačanom oslobađanju aminokiselina iz mišića, njihova razina u serumu je niska zbog pojačane potrošnje u jetri, što se osobito uočava u sepsi (161).

Navedene metaboličke promjene povezane su s posttraumatskim porastom izlučivanja stresnih hormona s kataboličkim djelovanjem (kateholamina, kortizola, glukagona), kao i hormona rasta, koji ima i katabolički i anabolički učinak. Istodobno dolazi do sniženja razine anaboličkih hormona, prvenstveno testosterona i inzulina (153,162). Nakon elektivnih operacija promjene su zabilježene i u razini tiroksina i trijodtironina (163). Neposredno nakon ozljeđivanja serumska razina hormona nalaze se unutar granica normale, pa je stoga nemoguće u objasniti sve navedene metaboličke promjene (153-154). Drži se da u nastanku tih promjena zapaženu ulogu imaju upalni posrednici oslobođeni iz oštećenoga tkiva i upalnih stanica (164-7). Nadalje, danas je dobro poznata činjenica da stresni hormoni, koji se izlučuju kao odgovor na traumu, utječu i na funkciju imunološkog sustava, kao i to da citokini koje luče imunokompetentne stanice imaju brojne metaboličke učinke (161,168-9).

Početna (“ebb”) faza, čije su značajke depresija većine fizioloških procesa, odsutna je ili brzo prolazi nakon kirurške traume-operacije (162). Iduću, hiperdinamsku ili “flow”-fazu obilježava pojačan metabolizam, a ona traje danima i tjednima, ovisno o veličini tkivnog oštećenja (160,162). Međutim, unatoč brojnim istraživanjima o povezanosti tkivnoga oštećenja i metaboličkih promjena, mnoge činjenice su i dalje nepoznate.

## 5.2. Neuroendokrini odgovor

Glavnu ulogu u pokretanju obrambene aktivnosti ljudskog organizma ima središnji živčani sustav (SŽS), koji je pokretač endokrino-metaboličkog odgovora na ozljedu (operaciju) (152,162). Mehanizam aktivacije središnjega živčanog sustava nakon ozljede ili operacije nije jasan. Poznato je da aferentna senzibilna vlakna, osobito mala mijelinizirana (tipa A-delta) i nemijelinizirana (C) vlakna, prenose znakove s mjesta ozljede/operacije do SŽS (170). Pokazano je da nakon denervacije u potpunosti izostaje adrenokortikalni odgovor iznad mjesta ozljede (162). U paraplegičnih osoba dolazi do znatno slabijeg porasta kortizola u serumu ako je operacija učinjena u denerviranom području. Nadalje, već u prvom satu nakon incizije u općoj anesteziji (kod npr. kolecistektomije i ingvinalne hernioplastike) vrijednosti hormon rasta i adrenokortikotropnog hormona značajno rastu u serumu. Međutim, taj hormonalni odgovor izostaje ukoliko je hernioplastika učinjena u spinalnoj anesteziji, pa čak i u slučaju kad je uz opću anesteziju primjenjena i epiduralna blokada (171-173). Aferentna somatosenzorna i simpatička vlakna vjerojatno su znatno važnija od aferentnih vagalnih puteva (174).

Međutim, osim neurogene stimulacije SŽS, vrlo važnu ulogu imaju i humoralni posrednici oslobođeni s mjesta ozljede ili iz upalnih stanica (156-7). Posrednici koji potpomažu aferentne neurogene podražaje i pridonose postoperacijskoj hiperalgeziji uključuju bradikinin, vazoaktivne amine, metabolite arahidonske kiseline te citokine (175).

Iako mehanizam aktivacije neuroendokrinog odgovora još nije u cijelosti jasan, promjene lučenja hormona nakon ozljede-operacije dobro su poznate. Neuroendokrini odgovor uključuje reakciju simpatikusa te djelovanje hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne osovine. Značajna simpatička aktivnost nastala zbog naglog povećanja razine kateholamina u serumu neposredno nakon ozljeđivanja - kirurškoga zahvata, obično se u razdoblju od 24 sata vraća u normalne vrijednosti. Postoji i korelacija između stupnja težine ozljede - ISS (engl. *injury severity score*) i razine kateholamina u serumu (176). Istodobno s aktivacijom simpatikusa aktivirana je i osovina hipotalamus-hipofiza-nadbubrežne žlijezde. Rezultat je povećano oslobađanje brojnih hormona, posebice onih s kataboličkim djelovanjem. Već jedan sat nakon incizije uočavaju se povišene vrijednosti

antidiuretičkog hormona (ADH ), adrenokortikotropina, hormona rasta, kortizola i glukagona (177-178). Lučenje inzulina ima bifazični tijek: nakon neposrednoga posttraumatskog sniženog lučenja javlja se pojačana sekrecija uz povećanu rezistenciju perifernih tkiva na inzulin (179).

Iako se povišene vrijednosti tih hormona nakon ozljede smatraju odgovornima za nastale metaboličke promjene, sve je više dokaza da se samo promjenama lučenja hormona ne mogu u cijelosti objasniti sve metaboličke promjene koje nastaju u “flow”-fazi (7-10 dana nakon operacije) (160). Razina kortizola normalizira se nekoliko dana nakon ozljede i ne postoji korelacija između serumske razine ovog hormona i težine metaboličkih poremećaja glukoze i proteina. Slično, ne postoji korelacija stupnja težine ozljede i razine kortizola u serumu (160). Ni težina ozljede (ISS) nije izravno povezana s intenzitetom metaboličkih promjena nakon traume. U prilog te činjenice govore podaci o hormonalnim promjenama nakon laparoskopske i “klasične” kolecistektomije (151,180). Uspoređujući porast stresnih hormona nakon klasične i laparoskopske kolecistektomije, nije dokazana razlika u visini ACTH, hormona koji oslobađa ACTH (CRH ), kortizola i adrenalina, a porast noradrenalina je bio čak i znatno veći nakon laparoskopskog zahvata tijekom prvih 20 minuta od početka operacije (180). Iako laparoskopska kolecistektomija ima niz prednosti (manji postoperacijski bol, brži oporavak, kraća hospitalizacija), kirurški stres i veličina traume ne razlikuju se bitnije između ova dva navedena operativna pristupa. Specifično, nije uočena razlika u razinama serumskog adrenalina, kortizola, C reaktivnog proteina (CRP) i interleukina 6 (151).

Whelan i Morris su usporedili transuretralnu elektroresekciju prostate u bolesnika operiranih u spinalnoj i općoj anesteziji. Iako porast kortizola nije zabilježen niti u jednoj skupini ispitanika, u bolesnika podvrgnutim općoj anesteziji uočen je određeni stupanj imunosupresije (181).

### **5.3. Imunološke promjene**

#### **5.3.1. Pregled imunosti**

Imunologija je biomedicinska znanost koja proučava imunost (lat. *immunitas*–otpornost, neprijemljivost), tj. sposobnost organizma da se odupre djelovanju stranih tvari (antigena). Temeljna uloga imunskog sustava jest razlikovanje “tuđeg” od “vlastitog” te

uklanjanje “tuđih” antigena i očuvanje cjelovitosti jedinke. Postoje dvije osnovne vrste obrambenih mehanizama: nespecifični (urođeni) i specifični (stečeni) (182).

#### **5.3.1.1. Nespecifična (urođena) imunost**

Nespecifična ili urođena imunost jest otpornost na strane tvari i mikroorganizme za koje nije potrebna prethodna senzibilizacija (kontakt). Drugim riječima, radi se o nespecifičnom odgovoru organizma koja ne dovodi do specifične imunološke memorije. Postoje brojni mehanizmi urođene otpornosti, a najvažniji su anatomske i fiziološke zapreke koje stoje na putu prodora uljeza u organizam, stanice nespecifične imunološke obrane (fagociti i NK-stanice), humoralne sastavnice (sustav komplementa i proteini akutne faze) te upalna reakcija.

#### **5.3.1.2. Specifična (stečena) imunost**

Specifična imunost definira se mogućnošću specifičnoga prepoznavanja i reakcije na određeni antigen. Za razliku od urođene imunosti, stečenu imunost odlikuju specifičnost (za antigen), raznolikost (“repertoire” tj. velik broj različitih receptora za antigen), mogućnost razlikovanja vlastitoga od tuđeg i imunološka memorija. Ta četiri svojstva čine osnovicu imunološkog odgovora u užem smislu riječi.

Specifična imunost sastoji se od dva kraka imunoreakcije: staničnog (celularnog) i humoralnog kraka. Glavni nosioci staničnog kraka jesu aktivirani makrofagi i limfociti T, dok su nosioci humoralnog kraka aktivirani B-limfociti koji nizom pretvorba sazrijevaju do plazma-stanica koje izlučuju topive efektorske molekule – protutijela.

### **6. Organi i stanice imunskog sustava**

#### **6.1. Limfatični organi**

Za organe i tkiva imunskog sustava u literaturi je uvriježen naziv *limfatični*. U anglo-američkoj literaturi pretežito se koristi naziv *limfoidni* (182).

Limfatični organi dijele se na primarne ili središnje i sekundarne ili periferne. Primarni limfatični organi u čovjeka jesu timus i koštana srž. Njihova glavna osobitost je da su to mjesta sazrijevanja i diferencijacije limfocita. U koštanoj srži sazrijevaju B-limfociti (nazvani prema analognom organu u ptica –*bursa Fabrizii*), dok je timus mjesto sazrijevanja T-limfocita, pa odatle i naziv T-limfocit. U oba slučaju sazrijevanjem nastaju imunokompetentne stanice koje na membrani izražavaju specifični receptor za antigen. U toj fazi razvoja limfociti u pravilu još nisu došli u dodir sa svojim specifičnim antigenom

pa ih nazivamo *naivnim* (antigenski neiskusnim) stanicama. Naivni limfociti zasijavaju periferne limfatične organe koje čine limfni čvorovi i slezena te nakupine limfatičnog tkiva u stijenci probavnoga, dišnog i genitourinarnoga sustava. Sekundarna limfatična tkiva jesu zapravo mjesta susreta limfocita i antigena, nakon čega započinje specifična imunološka reakcija. Pri tome važnu ulogu imaju stanice koje limfocitima predočuju antigen, tzv. antigen-predočne stanice (APS). Glavne APS jesu dendritične stanice (npr. u koži se te stanice nazivaju Langerhansove stanice), tkivni makrofagi (tkiva i sekundarna limfna tkiva) i limfociti B.

## **6.2. Stanice imunskog sustava**

Imunosna reakcija na antigen složena je pojava u kojoj sudjeluju različite stanice imunskog sustava i njihovi topivi produkti. Poremećaji sastavnica imunskog sustava, u pravilu, dovode do oštećenja imunološke reaktivnosti, najčešće u obliku imunodeficijencije. Stanice imunskog sustava možemo podijeliti na stanice urođene imunosti, među kojima se ističu prirodne ubilačke stanice (engl. natural killer cells, NK), fagociti i tzv. posredničke (medijatorske) stanice, te stanice koje posreduju specifičnu imunost - limfociti T i B, i njima pridružene antigen-predočne stanice - APS.

### **6.2.1. Limfociti**

#### **6.2.1.1. Limfociti T**

Limfociti T sazrijevaju u timusu i nakon toga ga napuštaju kao pomagački ("helper",  $T_h$ ), citotoksični ( $T_c$ ) limfociti T. Obje skupine limfocita izražavaju na membrani specifični receptor za antigen koji se naziva T-stanični receptor (TSR). Većina limfocita T u krvi i sekundarnim limfnim tkivima izražava receptor građen od bjelančevinskih lanaca  $\alpha$  i  $\beta$  ("klasični" limfociti T). Pored receptora za antigen, pomoćnički limfociti T izražavaju biljege CD3 i CD4, a citotoksični T-limfociti biljege CD3 i CD8. Biljezi CD4 i CD8 jesu koreceptorske molekule i specifični su biljezi dvaju glavnih subpopulacija limfocita T. Premda je specifičan biljeg svih limfocita T, molekula CD3 nije receptor, već molekula koja prenosi signal u unutrašnjost stanice nakon podražaja receptora specifičnim antigenom. Postoji još jedna, znatno malobrojnija, populacija limfocita T koji izražavaju TSR, ali koji se sastoji od lanaca  $\gamma$  i  $\delta$ . Većina tih stanica ne izražava koreceptore (ni CD4 nit CD8), a drži se da imaju važnu ulogu u neposrednom prepoznavanju antigena u tkivima, posebice u sluznicama (intraepitelijalni limfociti).

Klasični limfociti T svojim receptorom ( $TSR\alpha\beta$ ) ne prepoznaju slobodan tj. nativni antigen, već samo prerađeni proteinski antigen i to u obliku peptida. Prerađenu proteinskog antigena obavljaju antigen-predočne stanice (APS) koje peptidne odsječke “vežu” za vlastite molekule HLA i na taj ih način predočavaju membrani. Dakle, limfocit T prepoznaje prerađeni odsječak antigena vezan na molekulu HLA antigen-predočne stanice. Takav oblik prepoznavanja naziva se *spregnuto imunološko* prepoznavanje. Važno je napomenuti da pomoćnički limfociti prepoznaju antigen vezan za molekule HLA klase II na tzv. profesionalnim antigen-predočnim stanicama APS, kao što su dendritične stanice u koži, te limfociti B i makrofagi u sekundarnim limfnim tkivima. Citotoksični limfociti prepoznaju antigen vezan za molekule HLA klase I na ciljnim stanicama, a to su potencijalno sve stanice u organizmu.

Prepoznavanje antigena od strane  $CD4+$  stanica na APS dovodi do aktivacije ***CD4+ pomagačkih limfocita ( $T_h$ )*** što se očituje njihovom proliferacijom i sekrecijom brojnih modulatora i efektorne reakcije – citokina. Prema vrsti citokina koje izlučuju, aktivirani limfociti  $T_h$  mogu se podijeliti u dvije skupine - skupinu  $T_{h1}$  i skupinu  $T_{h2}$ . Prva skupina naziva se proupalnom, jer izlučuje interleukin-2 (IL-2), interferon-gama (IFN-gama) i faktor nekroze tumora (TNF-beta), tj. citokine koji potiču razvoj stanične imunološke reakcije. U staničnu imunosnu reakciju ubrajamo aktivaciju makrofaga (za eliminaciju unutarstaničnih bakterija) i aktivaciju citotoksičnih limfocita (za eliminaciju stanica zaraženih virusom). Druga skupina aktiviranih limfocita  $T_h$  naziva se pomoćničkom u užem smislu, jer luči interleukine IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 i IL-13 koji pomažu aktivaciju i diferencijaciju B-limfocita u plazma-stanice i sekreciju protutijela.

Aktivirani ***CD8+ citotoksični limfociti T (CTL)*** uništavaju (liziraju) sve ciljne stanice koje na membrani imaju izražen antigen (tj. antigenski odsječak) u sklopu molekule HLA klase I. Dakle, sve stanice organizma koje izraze *prerađeni* virusni ili tumorski peptidni antigen potencijalan su cilj aktiviranih citotoksičnih limfocita T. Ostali mikroorganizmi (kao npr. bakterije i paraziti) nisu unutarstanični organizmi pa se u pravilu ne prerađuju u stanicama organizma niti induciraju jak citotoksični odgovor. Nasuprot tome, izvanstanični mikroorganizmi induciraju jak humoralni odgovor za koji su odgovorni limfociti B (182).

### **6.2.1.2. Limfociti B**

Limfociti B sazrijevaju u koštanoj srži gdje stvaraju i izražavaju receptor za antigen u obliku molekule membranskog imunoglobulina (mIg). Novostvoreni limfociti B izražavaju mIgM, a nakon dolaska u sekundarna limfna tkiva izražavaju IgM i IgD iste antigenske specifičnosti. Drugi membranski biljezi limfocita B sudjeluju i pomažu u prepoznavanju i vezanju antigena (molekule CD19 i CD21), prijenosu signala nakon pobude receptora (molekula CD79) ili služe za interakciju s drugim stanicama. Na primjer, važna interakcija limfocita B jest ona s pomoćničkim limfocitima  $T_{h2}$  koja se ostvaruje na nekoliko razina – direktno fizički i putem citokina. Na primjer, limfociti  $T_{h2}$  luče citokine koji izravno pobuđuju limfocite B i usmjeravaju ih u razvoj u plazma-stanice. S druge strane, izravni dodir molekule CD40 (B) i CD40-liganda (T) važan je jer dovodi do prekapčanje razreda imunoglobulina koji će lučiti terminalno diferencirana B-stanica - plazma-stanica. Treba napomenuti da, za razliku od limfocita T, B-limfocitni receptor prepoznaje nativnu i (u pravilu) neprerađenu molekulu antigena (182).

### **6.2.1.3. Prirodenoubilačke stanice**

Prirodenoubilačke stanice ili engl. *natural killer (NK) cells* ranije su se nazivale i “nultom” populacijom limfocita zbog odsutnosti karakterističnih biljega limfocita T i B. Morfološki, te stanice pripadaju skupini velikih granuliranih limfocita, a karakteriziraju ih biljezi CD56 i CD16 u odsutnosti biljega CD3. Posreduju citotoksičnost koja ne ovisi o prethodnom dodiru s antigenom, pa stoga pripadaju stanicama prirodnog imunskog odgovora. Najjače djeluju protiv vlastitih stanica zaraženih virusom i protiv tumorskih stanica.

### **6.2.2. Profesionalne stanice koje predočuju antigen**

To je heterogena skupina stanica kojima je zajedničko svojstvo predočavanje antigena pomoćničkim limfocitima T. Razlikuju se profesionalne i neprofesionalne (akcesorne) antigen-predočne stanice. Profesionalne APS čine dendritične stanice, makrofagi i limfociti B, dok funkciju APS mogu imati i druge stanice u organizmu (posebice u upali) - endotel krvnih žila, mikroglia, Kupferove stanice jetre i sl. Razlikujemo dva osnovna obilježja antigen predočnih stanica (APS): 1. izražaj molekula HLA klase I i II; i 2. prerada proteinskih antigena u manje odsječke koji se vežu za molekule HLA i na taj

način predočavaju limfocitima T. Bez APS nema imunosne reakcije, jer i humoralni odgovor (limfociti B) zahtijeva pomoć aktiviranih limfocita T (182).

### **6.2.3. Fagociti**

To je također heterogena skupina stanica kojoj pripadaju (između ostalih) i navedene antigen predočne stanice. Prema klasičnoj podjeli, razlikujemo mononuklearne fagocite (monociti i makrofagi), polimorfonuklearne fagocite (neutrofili i eozinofili) te stanice koje imaju sposobnost fagocitoze i prerade antigena (npr. dendritične stanice i Kupferove stanice jetre). Pored uloge u nespecifičnoj imunosti, fagocitoza ima veliku ulogu u preradi i predočavanju antigena pa čini jednu od najvažnijih karika imunosnog odgovora.

### **6.2.4. Posredničke ili medijatorske stanice**

U tu skupinu stanica ubrajamo mastocite, bazofile i trombocite koji luče tzv. medijatore upalne reakcije i time sudjeluju u stvaranju upalnog procesa. Osim korisnog učinka koji komplementira specifično djelovanje imunosnog odgovora, katkad oštećuju vlastito tkivo i uključene su u imunopatogenezu pojedinih oblika preosjetljivosti (182).

## **7. TIJEK IMUNOLOŠKE REAKCIJE**

### **7.1. Prerada i predočavanje antigena**

Početak specifičnog imunosnog odgovora na proteinske antigene odvija se na razini antigen predočnih stanica. One najprije vežu i internaliziraju antigen (e), potom ih svojim enzimima cijepaju na manje odsječke – peptide, koji se (unutar stanice) vežu za molekule II. razreda HLA i na taj način izražavaju na membrani APS. Tako predočen antigen prepoznaju pomoćnički limfociti T koji se (uz odgovarajuće kostimulacijske signale) aktiviraju i započinju lučenje brojnih citokina. No, i sama ingestija i prerada antigena dovodi do aktiviranja APS, što se očituje lučenjem biološki aktivnih citokina. IL-1, IL-6 i IL-12 sudjeluju u aktivaciji limfocita, IL-8 je glavni kemotaktični čimbenik za neutrofilne granulocite, a interferon-gama djeluje poticajno na većinu stanica imunosnog odgovora (aktiviranje NK-stanice, diferencijacija T- i B-limfocita, pojačana ekspresija molekula HLA, aktiviranje makrofaga) (183).

### **7.2. Imunološko prepoznavanje i razvoj specifične imunosne reakcije**

Pomoćnički limfociti T svojim receptorom  $TCR\alpha\beta$  prepoznaju prerađeni antigen tj. peptid vezan za vlastitu molekulu II. razreda HLA na APS (spregnuto prepoznavanje). Pored stvaranja veze između receptora i antigena (peptida), istodobno mora doći do



drugih važnih veza između limfocita T i APS. To su koreceptorske veze (CD4 na limfocitu T i molekule HLA na APS), kostimulacijske veze (CD28 na limfocitu T i molekule B7 na APS) i brojne druge atehzijske veze kojima se osigurava afinitet vezanja receptora i antigena i aktivacija limfocita T.

Ovisno o naravi i koncentraciji antigena, vrsti APS, te čimbenicima koji još nisu dovoljno upoznati, pomoćnički limfociti ( $T_h$ ) mogu se diferencirati u dva smjera -  $T_{h1}$  ili  $T_{h2}$ -stanice (vidjeti u odjeljku o limfocitima T).

$T_{h1}$ -stanice luče citokine IL-2, IFN- $\gamma$  i TNF- $\alpha$  i snažno potiču razvoj **stanične ili celularne** imunoreakcije koja obuhvaća aktivaciju makrofaga i citotoksičnih limfocita T (CD8+ CTL). Ova je reakcija osnovni tip djelovanja na intracelularne nametnike, posebice viruse i intracelularne bakterije (npr. mikobakterije). Aktivirani makrofagi često uzrokuju nastanak specifičnih granuloma, kao što se vidi u tuberkulozi. Nasuprot tome, aktivirani citotoksični limfociti (CD8+ CTL) potiču borbu organizma protiv virusnih infekcija, a specifičan antigen na ciljnim stanicama prepoznaju spregnuto s molekulom I. razreda HLA. Naime, u virusom zaraženoj stanici dolazi do prerade virusnih antigena koji će se predočiti na membrani zaražene stanice u sklopu molekule HLA i time citotoksičnim limfocitima označiti cilj.

Za razliku od stanične ili celularne imunoreakcije, aktivacija pomagačkih stanica tipa  $T_{h2}$  dovodi do lučenja citokina (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) koji primarno pobuđuju razvoj **humoralnog**, dakle B-staničnog odgovora. Limfociti B svojim receptorom vežu nativni (neprerađeni) antigen, nakon čega dobivaju dodatne aktivacijske signale od  $T_{h2}$ -stanica i aktiviranih APS. Ti signali su citokini IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10 koji uzrokuju aktivaciju i dodatnu diferencijaciju B-limfocita u plazma-stanice. Plazma-stanice luče protutijela iste specifičnosti za antigen kao izvorni pobuđeni B-limfocit od kojega je nastala. Protutijela su bjelančevine iz frakcije gama-globulina, a biološki učinak im je različit: aglutinacija mikroorganizama, stvaranja imunokompleksa s antigenom i taloženje (imunoprecipitacija) novostvorenih kompleksa, vezanje komplementa i posredovanje bioloških učinaka komplementa, neutralizacija toksina, posredovanje u nespecifičnim citotoksičnim reakcijama (ADCC) i sl.

### 7.3. Nespecifična humoralna imunost

Nespecifična humoralna imunost posredovana je primarno sustavom komplementa (C) koji ima glavnu ulogu i u razvoju upalnog procesa. Sustav komplementa sastoji se od najmanje 15 proteina plazme koji su u fiziološkim uvjetima u inaktivnom stanju. Aktivacija komplementa tijekom invazije mikroorganizama ili prilikom autoimune reakcije odvija se u kaskadnoj enzimatskoj reakciji kojom novonastali produkt pokreće aktivaciju sljedeće komponente sustava. Glavni učinci aktiviranog komplementa jesu:

1. opsonizacija ili oblaganje mikroorganizama komponentama komplementa, što olakšava proces fagocitoze;
2. upala, kao posljedica oslobađanja medijatora; i
3. citotoksičnost posredovana protutijelom ili produktima mikroorganizma.

Dva su osnovna puta aktiviranja komplementa - klasični i alternativni. *Klasični* put aktiviranja komplementa usko je povezan s razvojem specifične imunosti, tj. funkcijom specifičnih protutijela, dok je *alternativni* put aktiviranja sastavni dio nespecifične (urođene) imunosti.

*Klasični* put aktiviranja komplementa započinje molekulom protutijela koja je vezala specifični antigen tj. imunokompleks. Molekule protutijela razreda IgG1, IgG3 i IgM najučinkovitiji su aktivatori komplementa. Za dvije molekule protutijela IgG veže se C1q-komponenta komplementa, a zatim susljedno dolazi do aktivacije devet glavnih komponenti komplementa i, konačno, do stvaranja kompleksa proteina koji napadaju i razaraju membranu ciljne stanice (engl. *membrane attack complex*). *Alternativni (properdinski) put* aktiviranja komplementa ne zahtijeva nazočnost prvih komponenta u sustavu (C1, C2 i C4), a pokreću ga produkti bakterija (lipopolisaharid-endotoksin) i plijesni (zimozan). Završava stvaranjem kompleksa koji, na kraju, dovodi do opsonizacije patogena (radi olakšane fagocitoze) ili razaranja ciljne stanice.

### 7.4. Stanicama posredovana nespecifična imunost

Sastavnice nespecifične imunosti su mononuklearni fagociti, polimorfonuklearni leukociti (PMN) i prirođeno ubilačke stanice (NK). Osim fagocitoze, prerade i predočenja antigena limfocitima, mononuklearni fagociti (monociti i makrofazi) luče i brojne citokine koji imaju bitnu ulogu u aktiviranju stanica imunosnog i "nespecifičnog" upalnog odgovora. Sličnu ulogu imaju i PMN. Međutim, PMN potaknuti određenim

humoralnim činiteljima, kao što su komplement i IL-8, mogu migrirati u područja oštećenja tkiva. NK- stanice su osobito važne u odstranjenju raznih tumorskih stanica, a njihovu aktivnost osobito potiče IFN- $\gamma$  koji luče makrofazi i pomoćnički limfociti (183).

## **8. UTJECAJ OZLJEDE NA IMUNOSNU REAKTIVNOST**

### **8.1. Poremećaj funkcije mononuklearnih fagocita**

Mononuklearnim fagocitima (makrofagima) pripada važno mjesto u obrani organizma, jer čine vezu između nespecifične (fagocitoza, upala) i specifične imunosti (predočavanje antigena limfocitima, efektor stanične imunosti). Makrofagi imaju istaknutu ulogu u upalnoj reakciji na ozljedu i u procesu cijeljenja (184). Lučenjem brojnih citokina (npr. IL-1, IL-6 i TNF), metabolita arahidonske kiseline (prostaglandina  $E_2$  -  $PGE_2$  i leukotriena  $B_4$  -  $LTB_4$ ), te transformirajućih činitelja rasta (TGF $\alpha$  i  $\beta$ ) djeluju na brojne druge stanice uključene u navedenim obrambenim procesima .

Funkcija mononuklearnih fagocita poremećena je nakon različitih oblika ozljede. To se odnosi i na njihovu funkciju prerade antigena i na poremećaj lučenja posrednika kojima reguliraju aktivnost drugih stanica, posebice citokina i  $PGE_2$  (185-90). Također je nađeno da posreduju značajno slabiji proliferacijski odgovor mononuklearnih stanica *in vitro* na mitogenike između 5 i 7. dana nakon ozljede ili operacije (191). Supresija mitogenog odgovora bila je praćena većom učestalošću posttraumatskih-postoperativnih infekcija.

### **8.2. Poremećaj funkcije polimorfonuklearnih leukocita**

Neutrofilni leukociti (polimorfonuklearni- PMN) najbrže se aktiviraju tijekom upale, pa stoga u obrani organizma čine prvu prepreku na mjestu lokalnog oštećenja tkiva. Dobro je poznato da svaku ozljedu prati leukocitoza koja je ponajprije posljedica mobilizacije PMN, koji tada čine i preko 80% svih leukocita periferne krvi. Poremećaj funkcije PMN nalazi se nakon teške opekline i mehaničke traume (192-4). Opisani su poremećaji kemotaksije, fagocitne aktivnosti, degranulacije i respiratorne (oksidativne) aktivnosti. Čini se da težina i oblik poremećaja PMN ovisi o vrsti i težini ozljede te metodi istraživanja. Ranija su istraživanja navodila oslabljenu adherenciju, kemotaksiju i respiratornu aktivnost (192-4), dok novija istraživanja pokazuju njihovu pojačanu (metaboličku) aktivnost (195-8), fagocitoza i proizvodnja slobodnih kisikovih radikala (198-9). Danas je nedvojbeno utvrđeno da "hiperaktivacija" PMN igra ključnu ulogu u patogenezi sindroma multiorganskog oštećenja -MODS (prema engl. *multiple organ*

*dysfunction syndrome* ) i akutnom plućnom distresnom sindromu - ARDS (prema engl. *acute respiratory distress syndrome* )(195,200-1).

### **8.3. Poremećaj funkcije NK-stanica**

Istraživanja funkcije NK-stanica pobuđuje posebno zanimanje zbog njihove antivirusnog i anti-tumorskog djelovanja. Većina autora bilježi znatno sniženu postoperacijsku citotoksičnu aktivnost NK-stanica (engl. *natural killer cell cytotoxicity-NKCC*) (202-7). Međutim, pojedini autori opisali su i kratkotrajno prolazno pojačanje aktivnosti NK-stanica tijekom samoga operacijskog zahvata nakon kojega slijedi supresija aktivnosti (206-7). Iako je mehanizam supresije citotoksične aktivnosti NK-stanica još nejasan, neki ga dovode u vezu s povišenim razinama "stresnih" hormona kortikotropina (ACTH) i kortizola nakon traume/operacije (207-8).

### **8.4. Poremećaj humoralne imunosti**

O poremećaju humoralne imunosti nakon ozljede, uključujući i elektivne kirurške zahvate, mogu se naći različiti podaci. Rezultati istraživanja ovisili su o vrsti i težini ozljede, te o načinu i vremenu određivanja pokazatelja humoralne imunosti nakon ozljede (150,209-14). Teške ozljede praćene jakim krvarenjem, a osobito opeklinisku traumu, obilježava snižena razina imunoglobulina u serumu (150,209-10). Budući da su zbog gubitka krvi ti bolesnici izloženi nadoknadi krvnoga volumena kristaloidima, zamjenama za plazmu i krvnim derivatima, vrlo je teško raspraviti dobivene rezultate (150). Nadalje, nakon imunizacije proteinskim antigenom (npr. tetanusnim toksoidom), osobe s opeklinskom traumom i osobe podvrgnute elektivnom kirurškom zahvatu stvaraju manje specifičnih protutijela (211-12). Ni rezultati funkcije limfocita B, izoliranih iz periferne krvi *in vitro*, nisu jedinstveni. Nađen je smanjeni proliferacijski odgovor na korovski antigen PWM (prema engl. *pokeweed mitogen*) u osoba s "tupom" ozljedom čija je težina (prema engl. *injury severity score-ISS* ) iznad 20 (213). Slično, odgovor limfocita B na mitogenik PWM znatno je slabiji u traumatiziranih osoba, što se očituje smanjenom proizvodnjom IgG i IgM. Međutim, spontana sekrecija IgG nije se razlikovala od one u zdravih osoba. Nadalje, uspoređujući proizvodnju i izlučivanje imunoglobulina cirkulirajućih limfocita *in vitro* u traumatiziranih bolesnika, elektivno operiranih bolesnika i zdravih dobrovoljaca, znatno niža razina imunoglobulina nađena je samo u skupini traumatiziranih bolesnika (214). Zanimljivo je da pri tome nisu nađene razlike

između proliferativnog odgovora limfocita na PHA (fitohemaglutinin), Con-A i PWM, kao i u drugim imunskim testovima *in vitro* (npr. omjeru CD4/CD8, citotoksičnosti posredovane protutijelima i NK-aktivnosti). Sva opisana istraživanja upućuju na to da je poremećaj humoralne imunosti izazvan oštećenjem posredničke uloge limfocita T koji svojim signalima potpomažu aktivaciju (IL-4), proliferaciju (IL-2 i IL-5) i maturaciju (IL-6) limfocita B.

### **8.5. Poremećaj na razini specifične stanične imunosti**

Slični kontradiktorni rezultati nalaze se i za učinak ozljede/operacije na sastavnice stanične imunosti. Pri tome je određivanje broja i subpopulacija limfocita T monoklonskim protutijelima izvorom najvećih proturječnosti (145,215-8). Većina istraživača nalazi nepromijenjen ili snižen ukupan broj limfocita T, odnosno CD3+ stanica (145,215-20), dok su vrijednosti za udjele CD4+, odnosno CD8+ limfocita vrlo različite. Opisano je sniženje udjela (postotka) pomoćničkih (CD4+) limfocita T i relativan pad apsolutnog broja u odnosu na vrijednosti prije operacije. Drugi su autori, međutim, našli nepromijenjene vrijednosti udjela i broja CD4+ limfocita T. U odnosu na CD8+ citotoksične limfocite, njihove vrijednosti su bile nepromijenjene ili snižene u odnosu na vrijednosti prije operacije (145,215-18). Rezultati zastupljenosti subpopulacija limfocita ovise o težini i vrsti ozljede, te o načinu određivanja tih stanica. Na primjer, rezultati dobiveni uporabom fluorescentnog mikroskopa razlikuju od onih dobivenih protočnim citometrom (217). U bolesnika koji su bili podvrgnuti klasičnoj elektivnoj kolecistektomiji, analiza limfocita s pomoću fluorescentnog mikroskopa pokazala je snižen omjer između pomoćničkih/citotoksičnih limfocita (CD4/CD8) kao isključiva posljedica povećanog udjela citotoksičnih limfocita (145). Međutim, rezultati dobiveni protočnom citometrijom upućuju na to da, uz sniženje omjera CD4/CD8, nakon operativnih zahvata i opekline dolazi do sniženja udjela obiju staničnih subpopulacija, pri čemu je gubitak CD4+ stanica izraženiji nego li CD8+ limfocita (CD4+/CD8+) (145,215-8).

I izvješća o *in vitro* funkciji limfocita T nakon ozljede/operacije vrlo su različita, a često i oprečna: dok većina autora nalazi smanjeni proliferacijski odgovor, drugi opisuju pojačani odgovor limfocita T na PHA *in vitro* nakon teške opekline ozljede (221-6). To se može objasniti izrazitom varijacijom odgovora limfocita na mitogene i u normalnoj

populaciji (227-8). Individualne značajke odgovora stanica periferne krvi na mitogenu stimulaciju *in vitro* ovise o dobi i ne pokazuju pravilnu distribuciju u zdravih osoba, ali treba napomenuti da testovi *in vitro* ne mogu biti potpuno pouzdani pokazatelji stvarnoga stanja imunskog sustava zbog složenosti funkcionalne interakcije velikoga broja različitih stanica *in vivo* (229). Od posebnoga bi značenja moglo biti vrijeme poslije ozljede (operacije) koje je odabrano za ispitivanje mitogene sposobnosti limfocita, jer je funkcionalnost imunskog sustava podložna dinamičkim promjenama, a one, kao i sam posttraumatski oporavak, ovise o vremenu proteklom od ozljeđivanja.

Osim poremećaja mitogenog odgovora limfocita *in vitro* nakon traume ili operacije, danas je jasno dokazan i njihov poremećaj u lučenju citokina. Smanjena proizvodnja IL-2 od strane limfocita T po mnogima je vodeći uzrok posttraumatske imunosupresije (230-1). IL-2 luče pomoćnički limfociti T, a ima ulogu u poticanju rasta i aktivnosti limfocita T, proliferaciji i diferencijaciji limfocita B i poticanju aktivnosti NK-stanica (232-3). Stoga je razumljivo zašto se tom citokinu pridodaje posebna važnost u nastanku posttraumatske imunosupresije. Uz sniženu produkciju IL-2, u traumatiziranih osoba je utvrđena i smanjena osjetljivost ciljnih stanica na ovaj citokin (234).

## **9. SUSTAVNI UČINCI LASERSKOGA ZRAČENJA**

### **9.1. Laseri niske energije ( LNE )**

Lasери se dijele na lasere visoke i niske energije. Primjena lasera niske energije (LNE) promiče se već više od 20 godina kao sigurna, učinkovita i bezopasna metoda u liječenju različitih degenerativnih bolesti i ozljeda lokomotornoga sustava (60). Laseri niske energije dali su izvrsne rezultate u cijeljenju rana koje vrlo sporo ili uopće ne cijele, kao što su hipostatski ulkusi potkoljenica (30).

Nedvojbeno su dokazani i učinci lasera niske energije na stanične funkcije. Pri tome su zračene bakterije, kvasnice i kulture stanica sisavaca. Opisan je učinak na modulaciju staničnog ciklusa i proliferaciju, sintezu DNA, motilitet i migraciju, sposobnost fagocitoze, respiratornu funkciju i enzimatsku aktivnost stanica (235-41). Istraživanja su pokazala da stimulacijski fotobiološki učinak ovisi o primijenjenoj valnoj duljini svjetla i dozi zračenja (od 0,1 do nekoliko J/cm<sup>2</sup>). Veće doze zračenja imaju uglavnom inhibicijski učinak (67,242).

Pokusi na eksperimentalnim životinjama pokazali su povoljan učinak zračenja na regeneracijske i reparacijske procese. Najbrojniji su podaci o učinku laserskoga zračenja na cijeljenje rana i na kožne defekte (243-6). Učinak zračenja LNE na ubrzanje cijeljenja uglavnom je uočen u životinja s izrazito pomičnom kožom (npr. u glodavaca), dok je slabije izražen na modelu svinje (247). Opisan je također i izvrstan učinak zračenja LNE nakon ozljeda perifernih živaca i središnjega živčanog sustava (248). Zračenje LNE značajno odgađa degeneraciju ozlijeđenoga optičkog živca (249). Budući da njegova ozljeda predstavlja leziju središnjega živčanog sustava koji nema sposobnost regeneracije, ovakav učinak lasera niske energije opravdava pokušaje njihove uporabe nakon ozljede središnjeg živčanog sustava (242,249). Elektrofiziološkim i morfološkim metodama dokazana je brža regeneracija perifernoga živca nakon ozljede gnječenjem kada se primijeni zračenje kože iznad živca, ali i zračenje segmenta kralješnične moždine pripadajućega živca (250-1). Utvrđena je i jača tenzijska čvrstoća zračenih anastomoza debeloga crijeva (ednoluminalnim putem) u odnosu na nezračene i to do 100 % slučajeva već četvrtoga postoperacijskog dana (252). Nađeno je da lasersko zračenje pridonosi bržem cijeljenju kostiju nakon prijeloma (253).

Klinička uporaba zračenja LNE počinje 70-ih godina prošlog stoljeća, kada su objavljeni prvi rezultati stimulacijskog učinka LNE na cijeljenje venoznih, varikoznih, posttrombotičnih ulceracija, radionekroza, dekubitusa kože, različitih lezija sluznice usne šupljine i porcije uterusa (67,254-8). Posljednjih godina najviše se izvješćuje o povoljnom učinku na varikozne ulkuse, osobito u dijabetičara (30,259). Zračenje LNE koristi se u liječenju bolesti lokomotornoga sustava te u neurološkim stanjima u kojima dominira bolni sindrom. Opisani su učinci na sportske ozljede, osteoartritis, reumatoidni artritis, tendinitis, dijabetičku neuropatiju, neuralgije trigeminusa, vaskularne glavobolje, sindrom karpalnog kanala (242,260-3). Povoljan analgetski učinak laserskog zračenja uočen je i u kroničnim bolnim sindromima, te u postoperativnom periodu (262,264). Posljednjih desetak godina postoje brojna izvješća i o liječenju želučanoga i duodenalnog vrieda laserima niske energije. Ta su istraživanja nedvojbeno dokazala brže cijeljenje vrieda pod utjecajem laserskoga zračenja. Cijeljenje je i dvostruko kraće nego u nezračenih pacijenata (265).

Poseban interes istraživača pobuđuju učinci laserskoga zračenja na tkivo koje nije bilo izravno izloženo zračenju. Ovi učinci nazivaju se još i sustavnim učincima laserskog zračenja. Promatranjem učinka zračenja LNE na cijeljenje rana uočene su, iako slabije izražene, stimulacijske promjene na rubovima ulkusa koji nisu bili izravno zračeni (66,255). Zračenjem kornealnih lezija oka stimulirano je cijeljenje zračene i suprotne strane koja je također bila ozlijeđena, ali ne i zračena (66). Na moguće sistemsko djelovanje upućuju i stimulacijski učinci na regeneraciju ozlijeđenih živaca nakon zračenja kože iznad živca, kao i funkcionalni i morfološki ubrzan oporavak bilateralnih ozljeda ishijadičnog živca kad je zračenje primijenjeno samo na jednoj strani. Pri tomu zračenje ublažava retrogradne degenerativne promjene motornog neurona u pripadajućem segmentu kralješnične moždine (206,248-50). Analgetski učinak tih lasera dovodi se u vezu sa sustavnim učinkom (242). Utvrđeno je i stimulacijsko djelovanje na percepciju bola u eksperimentalnih životinja (267). U literaturi se spominje i povoljan učinak na bolesnike nakon operacije kolorektalnog karcinoma. Naime, spominje se manji broj komplikacija (cijeljenje rane, tromboemolizam) u bolesnika koji su nakon operacije podvrgnuti intravaskularnom zračenju laserima niske energije (268). Navodi se i sustavna imunostimulacija nakon operacija mrežnice i tonzila (269-70).

## **9.2. Laseri visoke energije ( LVE )**

Laseri visoke energije danas su u širokoj uporabi u medicini, osobito u kirurškim granama. Lokalni učinci zračenja uzrokovani su pretvorbom laserskoga zračenja u toplinsku energiju. Termalni učinak ovisi o količini pretvorene energije koja uzrokuje zagrijavanje tkiva. Ona dovodi do reverzibilnih (na temperaturama do 45°C) i ireverzibilnih učinaka koji nastaju iznad 45°C. Temperatura raste i preko 400°C, a može dostići i 2000°C. Zbog toga se u tkivima može uočiti denaturacija proteina, koagulacija, vakuolizacija, vaporizacija, karbonizacija te "užarenost do bjelila" (engl. *incandescence*). Najizraženiji učinak je u središtu zračenja, dok se na periferiji učinak smanjuje. Ovisno o količini predane energije, u samom središtu uočava se "krater", dok je rubno tkivo karbonizirano. Perifernije od zone karbonizacije nalazi se zona koagulacijske nekroze i zona edema (271). Svi ti lokalni učinci lasera visoke energije vrlo su dobro poznati. Primjenjuju se u brojnim granama medicine i služe za rezanje, koagulaciju, vaporizaciju, zavarivanje, angioplastiku, litotripsiju.



Za razliku od lokalnih učinaka lasera visoke energije, sustavni učinci još uvijek su nedovoljno poznati. U literaturi se nalazi samo nekoliko radova koji vrlo oskudno opisuju moguće sustavne i imunološke promjene uzrokovane zračenjem lasera visoke energije. Na primjer, jedna skupina autora izvijestila je da ekscizija endometrioze s pomoću CO<sub>2</sub>-lasera ne utječe na NK-aktivnost periferne krvi (272). Nađeni su i podaci da se pojedini imunološki parametri (npr. IgG, IgA, IgM i C3) ne mijenjaju nakon tonzilokoagulacije s pomoću Nd:YAG-lasera (273). Pri liječenju želučanoga vrieda laserima visoke energije utvrđeno je i stimulativno djelovanje na neke imunološke parametre (274).

## 10. Cilj i svrha rada

Laser je jedan od temeljnih izuma moderne tehnologije koji se široko primjenjuje u brojnim granama ljudske djelatnosti, posebice u biomedicini, gdje se rabi u različitim dijagnostičkim i terapijskim postupcima.

U terapijskom djelovanju danas se uglavnom rabe laseri visoke energije, a uloga lasera niske energije manje je značajna. Lokalni učinak lasera visoke energije, uzrokovan interakcijom laserskog zračenja s biološkim tkivima, vrlo je dobro poznat (275), međutim o sistemskim učincima lasera visokih energija zna se vrlo malo (272-4).

Za razliku od utjecaja lasera, brojnija su istraživanja o utjecaju elektivnih operacija, traume, opekotina i psičkog stresa na imunološke parametre i reaktivnost ljudskog organizma (143-51). Učinci lasera niske energije na eksperimentalnim životinjama i na ljudima također su relativno dobro istraženi (243-53). U tim se istraživanjima mogu naći i podaci o sustavnim učincima lasera niske energije (66-7, 242, 248-50, 267-70). Najčešće se navodi indukcija određenoga stupnja imunostimulacije nakon primjene lasera niske energije. Nasuprot tome, u znanstvenoj i stručnoj literaturi rijetka su izvješća o učincima zahvata učinjenih laserom visoke energije na postoperativne laboratorijske i imunološke parametre u ljudi, a pogotovu nema spoznaja o utjecaju zahvata ELAP. U bolesnika s adenomom prostate ta bi činjenica mogla biti važna jer bolesnici pripadaju starijoj dobnoj skupini u kojoj se očekuje pad imunološke reaktivnosti i češće pojavljivanje infekcija i autoimunih fenomena. Pretpostavka je da poremećaj regulacije odgovora akutne faze može dovesti do nedostatne aktivacije nespecifičnog i specifičnog kraka imunološke reakcije i posljedičnog kroničnog upalnog odgovora. Nadalje, TURP je još uvijek "zlatna standardna metoda" u kirurškom liječenju bolesnika sa adenomom prostate. Utjecaj TURP-a na imunološku reaktivnost organizma u svjetskoj literaturi opisan je samo u jednom radu koji je objavljen prije razdoblja moderne imunodijagnostike (181). Stoga su ciljevi ovoga istraživanja slijedeći:

1. istražiti učinak lasera visoke energije (tj. najmanje primjenjene energije 14 000 J) u obliku endoskopske laserske ablacije prostate (ELAP) na rani poslijeoperacijski imunološki status bolesnika s adenomom prostate;

2. istražiti mijenjaju li se imunološki parametri s povećanjem primijenjene laserske energije;
3. istražiti učinak zahvata TURP na rani poslijeoperacijski imunološki status bolesnika s adenomom prostate;
4. temeljem dobivenih rezultata usporediti navedene dvije metode liječenja sa stajališta opće imunološke reaktivnosti ljudskoga organizma i istražiti moguće prednosti jedne metode nad drugom. Na temelju rezultata utvrditi koji je zahvat prihvatljiviji za bolesnika, gledajući s imunološkog stajališta, tj. sa stajališta očuvanosti imunoreaktivnosti bolesnika.

## **BOLESNICI I METODE**

### **1. Bolesnici**

Istraživanje je provedeno u Kliničkoj bolnici Dubrava, na Odjelu za urologiju Klinike za kirurške bolesti, uz sudjelovanje Zavoda za nuklearnu medicinu i Hematološko-biokemijskog laboratorija te u Zavodu za imunologiju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC "Rebro". U istraživanje je bilo uključeno 48 bolesnika u dobi između 60 i 70 godina, koji su podijeljeni u dvije skupine. Prvu skupinu bolesnika činili su bolesnici podvrgnuti transuretralnoj resekciji adenoma prostate (TURP), a drugu skupinu bolesnici podvrgnuti endoskopskoj laserskoj ablaciji prostate (ELAP). Svi su ispitanici detaljno pregledani prije zahvata radi isključivanja maligne ili upalne bolesti. Uz klinički pregled obavljene su i rutinske laboratorijske pretrage, rendgenogram pluća i ultrazvuk abdomena i urogenitalnog trakta. Svi bolesnici u kojih je postojala i najmanja dvojba gkeđe postojanja upalne bolesti ili malignoma bili su isključeni iz istraživanja. Da bi se isključila dijagnoza malignoma prostate, bio je obvezatan digitorektalni nalaz te uredan nalaz specifičnog tumorskog markera - prostata specifičnog antigena (PSA). Suspektan digitorektalni nalaz i/ili povećana razina tumorskog biljega u serumu bili su razlozi za isključivanje bolesnika iz istraživanja. Pri dvojbomom digitorektalnom nalazu, ali uz normalan nalaz PSA, dodatno je izvršen transrektalni ultrazvučni pregled i biopsija prostate. Ako su navedeni nalazi bili uredni, bolesnik je uključen u istraživanje i podvrgnut zahvatu TURP. Uredan patohistološki nalaz bio je obvezatan uvjet za uključivanje bolesnika u istraživanje.

Svi bolesnici bili su bez znakova upale, osobito bez znakova upale mokraćnih putova, što podrazumijeva uredan nalaz urina i urinokulture. To znači da su iz ispitivanja bili isključeni bolesnici s trajnim kateterom.

Nadalje, iz istraživanja su isključeni bolesnici nad kojima je u protekloj godini izveden bilo koji operacijski zahvat, dijabetičari (na insulinu ili peroralnim antidijabeticima), bolesnici s težim kardiorespiratornim bolestima, te oni bolesnici koji su nakon zahvata primili nadoknadu krvi.

Svi su bolesnici prije operacije pristali da dragovoljno sudjeluju u istraživanju. Nadalje, svi su bolesnici ispunili "*International prostate symptom score*" te ocijenili kakvoću

života sa sadašnjim mokraćnim tegobama (62). Uporabom suprapubične sonografije izračunt je približan volumen prostate i određen rezidualni urin (63). Rezidualni urina određivan je najmanje u tri navrata, a kao rezultat za praćenje uzeta je najmanja vrijednost. Svi su bolesnici prije zahvata imali valjani urofloumetrijski nalaz, što znači da su prilikom pregleda izmokrili najmanje 150 ml. Pretraga je obavljena u tri navrata, a najbolji rezultat uzet je u daljnju obradu.

Svi su bolesnici bili operirani u spinalnoj anesteziji, s tim da je u spinalni kanal ubrizgano 2 ccm 2% Anacaina. Jedan sat prije operacije bolesnici su primili 240 mg gentamycina (Garamycina) i.m. Od idućeg dana primali su kotrimaksazol (Sinersul) do vađenja katetera ili cistostome.

## **2. Laboratorijske pretrage**

Istraživanjem su bile obuhvaćene hematološke, biokemijske, endokrinološke i imunološke analize periferne krvi (seruma). Uzorci krvi vađeni su ujutro na dan operacije, neposredno nakon zahvata te 24 sata, šest dana i tri tjedna nakon zahvata.

### **2.1. Hematološke pretrage**

Za hematološke pretrage (KKS) krv je vađena u vakumske kušalice s antikoagulansom K3 EDTA (Becton Dickinson). Mjerenja su obavljena na hematološkom brojaču Sysmex 3000 SF, Japan. Sedimentacija je očitavana nakon sat vremena s pomoću metode po Westergrenu. Rezultati su izraženi u milimetrima na sat.

### **2.2. Biokemijske pretrage**

Uzorci krvi vađeni su u vakumske kušalice bez antikoagulansa tvrtke Becton Dickinson. Serum je dobiven nakon centrifugiranja krvi brzinom 3500 ok/min, na +4°C tijekom 15 minuta. Ispitani su slijedeći analiti: AST, ALT, LDH, CPK, GGT, GUK, bilirubin, alkalna fosfataza, kreatinin, urea, proteini i albumini (komercijalni reagensi tvrtke Olympus Diagnostic GmbH, Lismeehan, Ireland).

### **2.3. Endokrinološke pretrage**

Uzorci krvi vađeni su u vakumske kušalice bez antikoagulansa tvrtke Becton Dickinson. Serum je dobiven nakon centrifugiranja krvi brzinom 3500 ok/min, na +4°C tijekom 15 minuta. Za dobivanje plazme krv se uzimala s heparinom, EDTA ili kojim drugim antikoagulansima. Prikupljen i obrađen materijal odmah se analizirao ili se čuvao na +4°C jedan do dva dana, ovisno o stabilnosti spoja koji se određuje. U većini slučajeva

materijal se čuvao na  $-20^{\circ}\text{C}$  do izvođenja analize. U ovom istraživanju određivane su koncentracije hormona T3, T4, TSH, ACTH i kortizola u serumu ili plazmi ispitanika koristeći se metodom RIA. Korišteni su reagensi firme CIS-Bio International iz Cedex, Francuska ili DPC (Diagnostic Products Corporation) iz Los Angeles, SAD-a. Kao obilježivač upotrijebljen je  $^{125}\text{J}$ , a radioaktivnost je mjerena u brojaču LKB Clinigamma 1272 s dva detektora u vremenu od 1 minute (ili onoliko koliko je potrebno da se u nultom standardu skupi 10000 impulsa zbog bolje statistike brojenja). Dobivene koncentracije su izražavane u dijelovima mol/l; IJ/l ili g/l.

## **2.4. Imunološke pretrage**

### **2.4.1. Serumske pretrage**

Uzorci krvi vađeni su u vakuumske kušalice bez antikoagulansa tvrtke Becton Dickinson. Serum je dobiven nakon centrifugiranja krvi brzinom 3500 ok/min, na  $+4^{\circ}\text{C}$  tijekom 15 minuta. Analiti CRP, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, IgA, IgG i IgM analizirani su s pomoću komercijalnih reagensa tvrtke Olympus Diagnostic GmbH, Lismeehan, Ireland. Kontrolni uzorci bili su od tvrtki Olympus i Boehringer Mannheim. Sve analize rađene su na kliničkom kemijskom analizatoru Olympus AU 600.

Elektroforeza seruma rađena je na agrarozu gelu s pomoću Paragon SE tvrtke Beckman. Analiza traka učinjena je na denzitometru Appraise tvrtke Beckman.

### **2.4.2. Imunološka fenotipizacija limfocita periferne krvi**

#### **2.4.2.1. Monoklonska protutijela**

U radu su korištena komercijalna monoklonska protutijela tvrtke Becton Dickinson (Heidelberg, Njemačka) koja su bila obilježena specifičnim fluorokromima - fluorescein-izotiocijanatom (FITC) i fikoeritriinom (PE). Panel protutijela sastojao se od pojedinačnih izravno obilježenih (FITC ili PE) protutijela ili komercijalne kombinacije dvaju obilježenih protutijela (jedno s FITC, drugo s PE) koja pokazuju ovu specifičnost:

- a) anti-CD45FITC/anti-CD14PE (Leucogate), kombinacija protutijela za automatsko određivanje ograde limfocita tijekom analize stanica periferne krvi protočnim citometrom; CD14 je izražen na monocitima, dok je CD45 pan-leukocitni biljeg različito izražen na limfocitima, monocitima i granulocitima;
- b) IgG1FITC/IgG2aPE, izotipske kontrole za primijenjena protutijela: ne vežu se za ljudske leukocitne antigene;

- c) anti-CD3FITC/anti-CD19PE, kombinacija protutijela za istodobno otkrivanje T- (CD3+) i B- (CD19+) limfocita;
- d) anti-CD3FITC, protutijelo za otkrivanje zrelih T-limfocita;
- e) anti-CD4PE, protutijelo za otkrivanje CD4+ (pomagačkih) T-limfocita;
- f) anti-CD8PE, protutijelo za otkrivanje CD8+ (citotoksičnih) T-limfocita i dijela NK-stanica;
- g) anti-CD16+56PE, kombinacija protutijela obilježenih istim fluorokromom, a koja su specifična za Fc-receptor IgG (FcγRIII) (biljeg CD16), odnosno biljeg NK-stanica (CD56); služe za određivanje NK-stanica;
- h) anti-CD25PE, protutijelo koje prepoznaje receptor za interleukin 2 (IL-2R): služi za određivanje aktiviranih limfocita, odnosno aktiviranih T-limfocita (CD3+CD25+);
- i) anti-HLA-DRPE, protutijelo koje prepoznaju nepolimorfni dio molekule HLA-DR; zajedno s biljezima T-limfocita služi za otkrivanje aktiviranih T-limfocita (CD3+HLADR+).

#### **2.4.2.2. Obilježavanje stanica**

Krv je uzimana venepunkcijom u sterilne kušalice koje su sadržavale kalijev EDTA (Vacutainer<sup>TM</sup>, K<sub>3</sub>EDTA, Becton Dickinson). Uzorke krvi (prosječni ukupni volumen 12 mL) slali smo bez odlaganja u imunološki laboratorij u kojemu je započinjao postupak obrade i analize u vremenskom rasponu od 5 do 10 minuta. Jedan volumen krvi (1-2 mL) sterilno bi se odvojio za potrebe imunološke fenotipizacije, dok se preostali volumen krvi (obično 10 mL) rabio za izdvajanje mononuklearnih stanica i test proliferacije limfocita *in vitro*.

Za imunološku fenotipizaciju limfocita korištena je metoda izravnoga jednostrukog i dvostrukog bojenja stanica pune krvi, a prema uputama proizvođača monoklonskih protutijela (Becton Dickinson). Ukratko, u obilježene originalne polistirenske kušalice za protočnu citometriju veličine 12x75 mm (Becton Dickinson, kat. br. 352052) doda se određen volumen monoklonskog protutijela (ili kombinacije protutijela), ovisno o koncentraciji protutijela u originalnom pakiranju. Nakon dodatka protutijela, u kušalicu se doda 100 µL nerazrijeđene periferne krvi, nakon čega se sadržaj kušalice dobro promiješa s pomoću električne drmalice i ostavi inkubirati u tami tijekom 15 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon isteka 15 minuta, u kušalice se doda po 2 mL otopine za

liziranje eritrocita (FACS™ Lysing solution, Becton Dickinson, kat. br. 349202). Nakon toga kušalice se ostave 10 minuta u tami na sobnoj temperaturi. Po isteku 10 minuta, stanice se obaraju 5-minutnim centrifugiranjem brzinom (silom) od 350xg na sobnoj temperaturi. Nakon obaranja stanica, nadtalog se aspirira vakuumskom sisaljkom (ostavljajući oko 50 µL nadtaloga), a u kušalice se doda po 2 mL fiziološke otopine puferirane fosfatom (engl. *phosphate buffered saline*, PBS, pH 7.4). Stanice se resuspendiraju trešnjom na drmalici, nakon čega se ponovo obaraju petominutnim centrifugiranjem na 300xg i sobnoj temeperaturi. Nakon obaranja, nadtalog se aspirira, a stanični talog resuspendira u 0,5 mL otopine za fiksaciju stanica (CellFix, Becton Dickinson, kat. broj. 340181). Na taj način pripremljeni uzorci ostavljaju se u hladnjaku do analize. Vrijeme koje je proteklo od pripravljanja uzorka do propuštanja na protočnom citometru iznosilo je najčešće jedan, a najviše četiri sata.

#### **2.4.2.3. Protočna citometrija**

Za analizu obilježenih limfocita periferne krvi rabljen je protočni citometar FACScan tvrtke Becton Dickinson. Za propuštanje uzoraka kroz aparat koristili smo se programom za automatsku analizu limfocitnih subpopulacija (SimulSET™ Software, Becton Dickinson), a isti je program upotrebljen i za konačnu analizu limfocita. U pojedinim slučajevima uzorci su bili i dodatno analizirani s pomoću programa CellQuest™ (Becton Dickinson), a najčešće u slučaju većeg sadržaja staničnog debrisa koji je sprječavao automatski program u postavljanju automatske ograde limfocita. Program SimulSet™ rabi kombinaciju protutijela Leucogate za automatsko postavljanje ograde oko stanica tipa limfocita. Za savki biljeg (ili kombinaciju biljega) mjereno je minimalno 5.000 stanica unutar ograde limfocita. Fluorescencija obilježenih stanica analizirana je s pomoću točkastih prikaza (engl. *dot-plot*) i histograma fluorescencije (program CellQuest™). Oba programa raspoložu automatskom obradom fluorescencije stanica koja se iskazuje brojem i potokom pozitivnih stanica, te ostalim parametrima fluorescencije stanica. Konačni rezultat mjerenja jest postotak stanica obilježenih određenim protutijelom u odnosu na broj analiziranih stanica karakteristika limfocita. Da bi se dobile apsolutne vrijednosti pojedinih limfocitnih subpopulacija korišteni su podaci dobiveni s hematološkog brojača, pri čemu je apsolutni broj limfocitne subpopulacije izračunat prema jednadžbi:



apsolutni broj limfocitne subpopulacije ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) =

broj leukocita ( $\times 10^3/\text{}\mu\text{L}$ )  $\times$  udio limfocita  $\times$  udio subpopulacije među limfocitima

Za kontrol su preuzete referentne vrijednosti limfocitnih subpopulacija zdravih odraslih osoba određene u laboratoriju u kojemu je provedena analiza.

### **2.4.3. Test proliferacije limfocita**

Mononuklearne stanice periferne krvi najprije su se izdvojile od ostalih leukocita s pomoću fikola (Ficoll-Hypaque, Pharmacia, Upsalla, Švedska). Primjerice, krv se razrijedi sterilnim hranjivim medijem RPMI1640 u omjeru 1:2 i potom nadsloji nad sterilnu otopinu fikola u omjeru 3:1 (na 3 mL fikola nadsloji se 9 mL razrijeđene krvi). Kušalice se prekriju sterilnom aluminijskom folijom, prenesu u centrifugu i centrifugiraju 30 minuta na 500xg, na sobnoj temperaturi. Nakon centrifugiranja, kušalice se prenesu u komoru za sterilni rad, nadtalog se aspirira i odbaci, dok se mononuklearne stanice na dodirnom sloju plazme i fikola nježno aspiriraju sterilnom Pasteurovom pipetom. Stanice se prenesu u sterilnu kušalicu, doda im se najmanje 3 volumena sterilnog medija RPMI1640, nakon čega se stanice 10 minuta centrifugiraju na 600xg, na sobnoj temperaturi. Postupak ispiranja stanica od fikola ponavlja se još jednom, nakon čega se stanični talog resuspendira u 1 mL medija RPMI1640. Oko 50  $\mu\text{L}$  stanične suspenzije odvoji se za određivanje brojnosti i vijabilnosti izdvojenih stanica s pomoću hemocitometra. Za određivanje brojnosti stanica rabljena je Türkova otopina, dok je za određivanje vijabilnosti stanica rabljena otopina tripanskog modrila.

Stanice se potom podese na koncentraciju  $2 \times 10^6/\text{mL}$  u mediju RPMI1640, nakon čega se izvodi stimulacija stanica *in vitro*. Za svaki mitogenik (i kontrolu) rabili su se triplikatni uzorci. Ukratko, 50  $\mu\text{L}$  izdvojenih mononuklearnih stanica (ukupno  $10^5$  stanica) doda se u bunarić sterilne mikrotitarske pločice (MICROTETST III<sup>TM</sup> 96-well, Falcon, kat. br. 3075). Na stanice se potom doda 50  $\mu\text{L}$  inaktiviranog ljudskog AB seruma, 50  $\mu\text{L}$  medija RPMI1640, te 50  $\mu\text{L}$  mitogenika prethodno razrijeđenog u mediju RPMI1640. Konačna koncentracija mitogenika bila je 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Korišteni su ovi mitogenici: fitohemaglutinin (PHA), konkanavalin A (ConA) i korovski mitogen (engl. pokeweed mitogen, PWM) (Sigma Chemical, St. Louis, SAD). Proliferacija limfocita mjerena je s pomoću testa ugradnje radioaktivnog timidina.

#### **2.4.3.1. Test ugradnje radioaktivnog timidina**

Nakon dodatka mitogenika, mikrotitarske pločice prekrivene su originalnim poklopcem i kroz 48 sati ostavljene u inkubatoru (Heraus CO<sub>2</sub>, Hanau, Njemačka) uz stalne uvjete uzgoja (37<sup>0</sup>C, 5% CO<sub>2</sub> u atmosferi zasićenoj vlagom). Nakon isteka inkubacije od 48 sati, u svaki bunarić (kulturu) doda se ukupno 1 μCi <sup>3</sup>H-timidina (Radiochemical Centre, Amersham, Engleska, specifična aktivnost 1 mCi/mM), nakon toga stanice se ostave u istim uzgojnim uvjetima daljnjih 18 sati. Ugradnja <sup>3</sup>H-timidina prekida se postavljanjem pločice na 4<sup>0</sup>C tijekom 60 minuta, nakon čega se pristupa taloženju stanica iz bunarića na čvrstu podlogu. U tu svrhu korišten je Millipore filter (Titertek Cell Harvester Filter, Flow Labs, Irvine, Velika Britanija) i poluautomatski obirač stanica (Cell Precipitator O. Hiller Ltd., Engleska). Papirići s oborenim stanicama sušeni su u termostatu na temperaturi od 56<sup>0</sup>C tijekom 24 sata, nakon čega su prebačeni u bočice sa scintilacijskom tekućinom. Radioaktivnost uzoraka mjerena je u beta-scintilacijskom brojaču (RackBeta, 214, Wallac, Turku, Finska). Rezultati su izraženi u broju otkucaja u minuti (*counts per minute*, cpm) nakon što su od stimuliranih kultura oduzete vrijednosti otkucaja nestimuliranih kultura (Δcpm) te indeksom stimulacije (SI). Za kontrolu su poslužile vrijednosti dobivene tjednim ispitivanjem limfocitne proliferacije zdravih odraslih osoba u laboratoriju u kojemu je provedena analiza.

### **3. Statistička obrada podataka**

U istraživanju smo koristili:

1. Deskriptivnu statistiku: aritmetičke sredine, standardne devijacije, najmanje i najveće vrijednosti
2. Inferencijalnu statistiku:
  - a) Za testiranje razlike među skupinama (ELAP i TURP) koristili smo Mann-Whitneyev U- test
  - b) Pri testiranju razlika u drugom, trećem, četvrtom i petom mjerenju u odnosu na početno vrijednost koristili smo Wilcoxonov test ekvivalentnih parova.

## REZULTATI

### **Klinički pokazatelji bolesnika s adenomom prostate**

Istraživanjem je obuhvaćeno 48 bolesnika s adenomom prostate, od kojih je 24 (50%) bilo podvrgnuto transuretralnoj resekciji prostate (TURP), a drugih 24 (50%) endoskopskoj laserskoj ablaciji prostate (ELAP). Osnovni klinički pokazatelji bolesnika obiju skupina prije zahvata prikazani su u Tablici 1.

Svi bolesnici bili su u dobi između 60 i 70 godina. U skupini bolesnika podvrgnutih zahvatu TURP prosječna životna dob iznosila je 64,6 godina (raspon 60-68 godina), dok je prosječna životna dob bolesnika podvrgnutih zahvatu ELAP iznosila 66,4 godine (raspon 62-69 godina). Nije nađena statistički značajna razlika u dobi između istraživanih skupina bolesnika.

*International Prostate Symptom Score (IPSS)* jest međunarodni upitnik kojim bolesnici ocijenjuju simptome uzrokovane uvećanjem prostate. U skupini bolesnika podvrgnutih zahvatu ELAP on je prosječno iznosio 20,6 (raspon 16-26), dok je u bolesnika podvrgnutih zahvatu TURP prosječno iznosio 21,8 (raspon 18-28). Nije nađena statistički značajna razlika u IPSS između dviju ispitivanih skupina bolesnika.

Kakvoću života uz mokraćne tegobe – engl. “quality of life” (QL) - bolesnici u skupini ELAP iskazali su prosječnom ocjenom 4,3 (raspon 2-5), a bolesnici skupine TURP prosječnom ocjenom 4,6 (raspon 3-6). Nije nađena statistički značajna razlika u navedenom parametru između obiju skupina bolesnika.

Prosječna vrijednost vršnog protoka urina u skupini ELAP iznosila 10,1 mL/s (raspon 8,9-13,1 mL/s), dok je u skupini TURP iznosila 9,4 mL/s (raspon 6,8-11,9 mL/s). Nije nađena statistički značajna razlika u vršnom protoku između obiju skupina bolesnika.

Prosječna vrijednost rezidualnog urina u skupini ELAP iznosila je 80 mL (raspon 0-120 mL), a u skupini TURP 90 mL (raspon 30-180 mL). Nije nađena statistički značajna razlika između tih dviju skupina bolesnika.

Prosječna vrijednost volumena prostate mjerena suprapubičnom sonografijom u skupini ELAP bila je 31 ccm (raspon 20-45 ccm), a u skupini TURP 34 ccm (raspon 25-50 ccm). Nije nađena statistički značajna razlika u volumenu prostate između tih dviju skupina bolesnika.

Tablica 1. Klinički pokazatelji bolesnika s adenomom prostate prije zahvata u skupinama TURP i ELAP

Vrsta zahvata	N	Dob (godine)	IPSS <sup>a</sup>	QL <sup>b</sup>	Q-max <sup>c</sup> (mL/s)	Rezidualni urin (mL)	Volumen adenoma (ccm)
ELAP	24	66,4±1,4 <sup>d</sup> (60-68) <sup>e</sup>	20,6±1,9 (16-26)	4,3±0,4 (2-5)	10,1±1,1 (8,9-13,1)	80±24 (0-120)	31±4,4 (20-45)
p		0,637	0,582	0,762	0,723	0,125	0,426
TURP	24	64,6±1,9 (62-69)	21,8±1,6 (18-28)	4,6±0,6 (3-6)	9,4±1,9 (6,8-11,9)	90±29 (30-180)	34±5,1 (25-50)

<sup>a</sup>International prostate symptom score; <sup>b</sup>kakvoća života uz mokraćne tegobe (prema engl. quality of life); <sup>c</sup>vršni protok; <sup>d</sup>srednja vrijednost ± standardna devijacija; <sup>e</sup>raspon vrijednosti

p-razlika među skupinama

Primijenjena energija laserskog zračenja u skupini ELAP prosječno je iznosila 21.300 J (raspon 14.400-36.000 J). Ta je skupina bolesnika dodatno podijeljena na podskupine, a u ovisnosti o veličini adenoma prostate i primijenjenoj energiji laserskog zračenja. U prvoj skupini bili su bolesnici s manjim adenomom, prosječnog volumena 23 ccm (raspon 20-30 ccm), u kojih je primijenjena energija zračenja prosječno iznosila 14.900 J (raspon 14.400-15.300 J). U drugoj skupini bili su bolesnici s prosječnim volumenom adenoma prostate 34 ccm (raspon 30-45 ccm) u kojih je primijenjena energija laserskog zračenja prosječno iznosila 25.300 J (raspon 18.000 – 36.000 J).

U zaključku nije nađena statistički značajna razlika u kliničkim pokazateljima između tih dviju skupina bolesnika. Time je uklonjen potencijalni utjecaj kliničkih osobina bolesnika prije zahvata TURP ili ELAP na sveukupne laboratorijske pokazatelje tijekom praćenja bolesnika nakon zahvata.

#### **Laboratorijsko praćenje bolesnika s adenomom prostate nakon zahvata ELAP ili TURP**

Od ukupno 48 bolesnika s adenomom prostate, 24 (50%) bilo je podvrgnuto transuretralnoj resekciji prostate, a 24 (50%) endoskopskoj laserskoj ablaciji prostate. U svih su bolesnika određivani hematološki, biokemijski, endokrinološki i imunološki

pokazatelji periferne krvi. Laboratorijski pokazatelji određivani su u pet vremenskih točaka: I. mjerenje - neposredno prije zahvata ELAP ili TURP; II. mjerenje – neposredno nakon učinjenog zahvata ELAP ili TURP; III. mjerenje – nakon 24 sata od zahvata ELAP ili TURP; IV. mjerenje – nakon 6 dana od zahvata ELAP ili TURP; i V. mjerenje – nakon 21 dana od zahvata ELAP ili TURP.

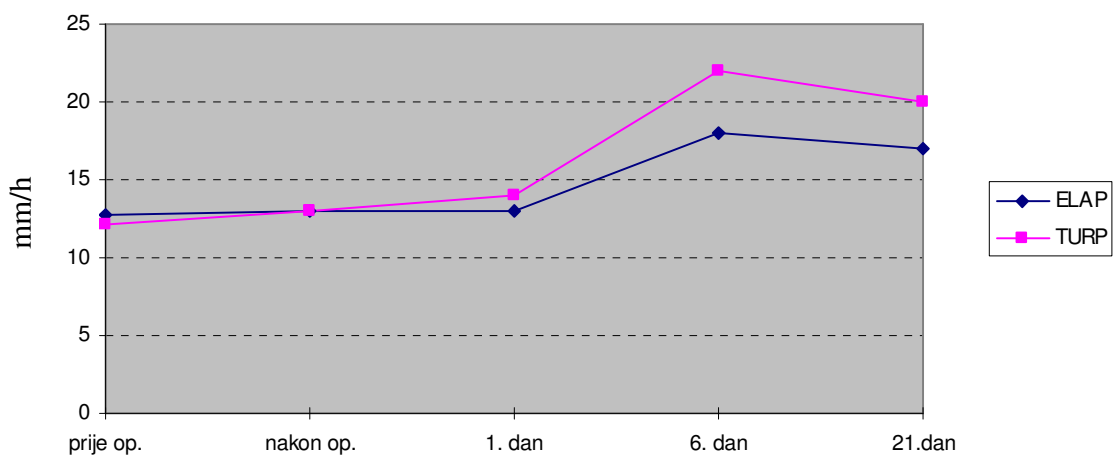
### **Hematološki pokazatelji**

Hematološke pokazatelje u bolesnika s adenomom prostate nakon zahvata ELAP ili TURP prikazuje Tablica 2.

#### ***Sedimentacija eritrocita***

Statistički značajna razlika u vrijednosti sedimentacije u odnosu na početne vrijednosti (tj. vrijednosti prije zahvata) nađene su u obje ispitivane skupine 6. postoperativnog dana i 21. postoperativnog dana. Vrijednosti sedimentacije eritrocita nisu bile vjerodostojno različite između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja (Grafikon 1).

Grafikon 1: Srednje vrijednosti SE prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP

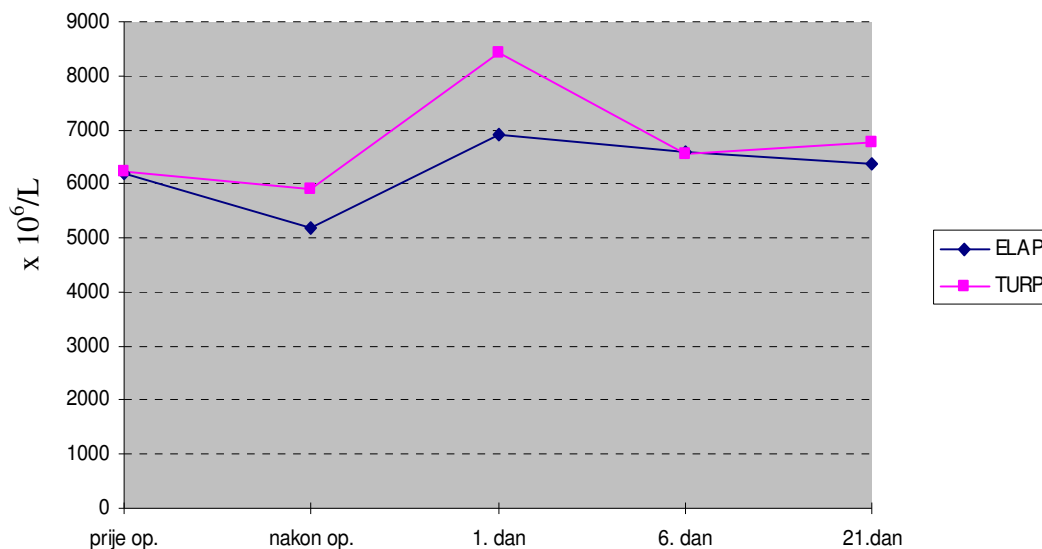


#### ***Broj leukocita u perifernoj krvi***

U odnosu na početne vrijednosti, broj leukocita u skupini ELAP bio je statistički značajno niži neposredno nakon izvršenog zahvata, dok je u skupini TURP značajan porast leukocita zabilježen 24 sata nakon zahvata. U ostalim točkama mjerenja zabilježen

je porast broja leukocita u odnosu na početnu vrijednost, ali taj porast nije bio statistički značajan. Statistički značajna razlika među skupinama nađena je 24 sata nakon zahvata (Grafikon 2).

Grafikon 2: Srednje vrijednosti broja leukocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



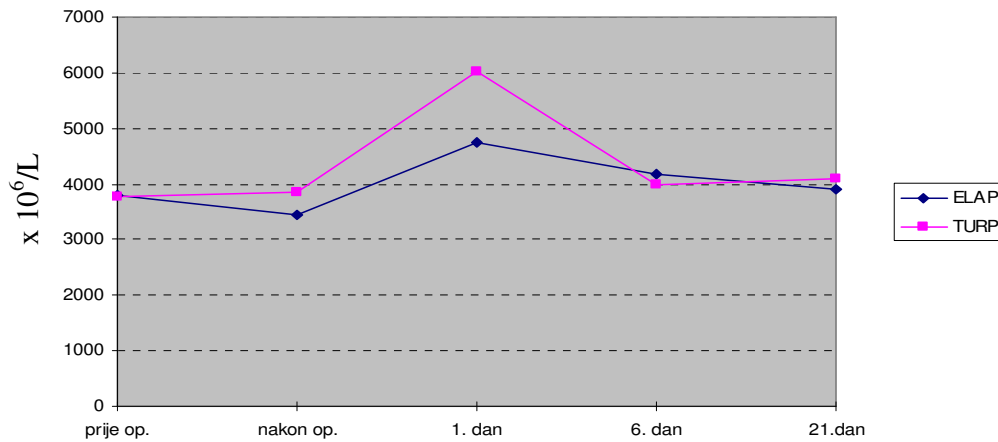
#### ***Udio i broj neutrofilnih leukocita u perifernoj krvi***

Značajno više vrijednosti *udjela* neutrofilnih leukocita periferne krvi u odnosu na početne vrijednosti prije zahvata nađene su u obje skupine neposredno nakon učinjenog zahvata te 24 sata nakon zahvata. Vrijednosti udjela neutrofilnih leukocita u perifernoj krvi bolesnika (izraženo u postocima leukocita) nisu se razlikovale između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja .

U odnosu na početne vrijednosti *broja* neutrofila, u skupini ELAP najprije je uočeno značajno sniženje njihova broja neposredno nakon zahvata, a zatim je broj neutrofila značajno porastao 24 sata nakon zahvata. Usporedbe radi, u skupini TURP nađen je porast i neposredno nakon zahvata (iako ne značajan) te značajno povećanje broja neutrofila 24 sata nakon zahvata. Slično kretanju broju leukocita, i apsolutni broj

neutrofilnih leukocita također se značajno razlikovao između ispitivanih skupina samo u jednoj točki mjerenja - 24 sata nakon zahvata (Grafikon 3).

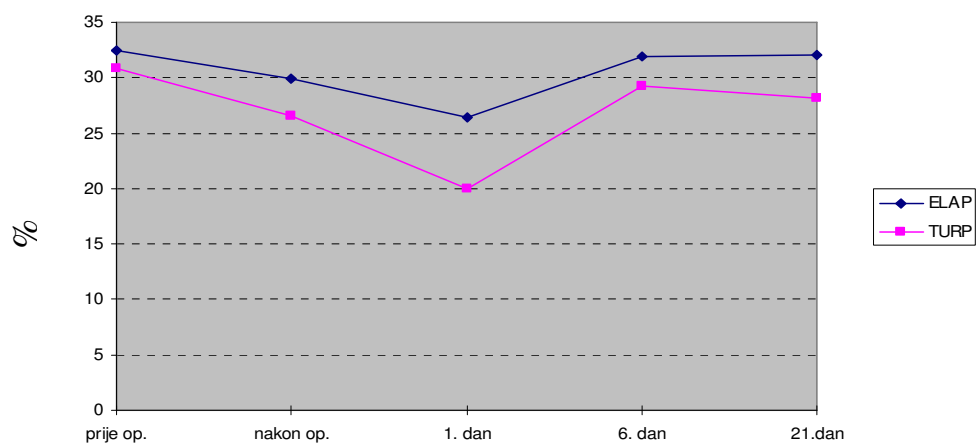
Grafikon 3: Srednje vrijednosti broja neutrofila prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



#### ***Udio i broj limfocita u perifernoj krvi***

Promjena udjela limfocita u odnosu na početne vrijednosti unutar skupina slijedila je dinamiku promjene broja limfocita: u obje skupine nađeno je sniženje udjela limfocita neposredno nakon zahvata, iako u skupini ELAP nije bilo značajno. Tek 24 sata nakon zahvata razlika je značajna u obje skupine. Udio limfocita bio je značajno veći u skupini ELAP nego u skupini TURP 24 sata nakon zahvata (Grafikon 4).

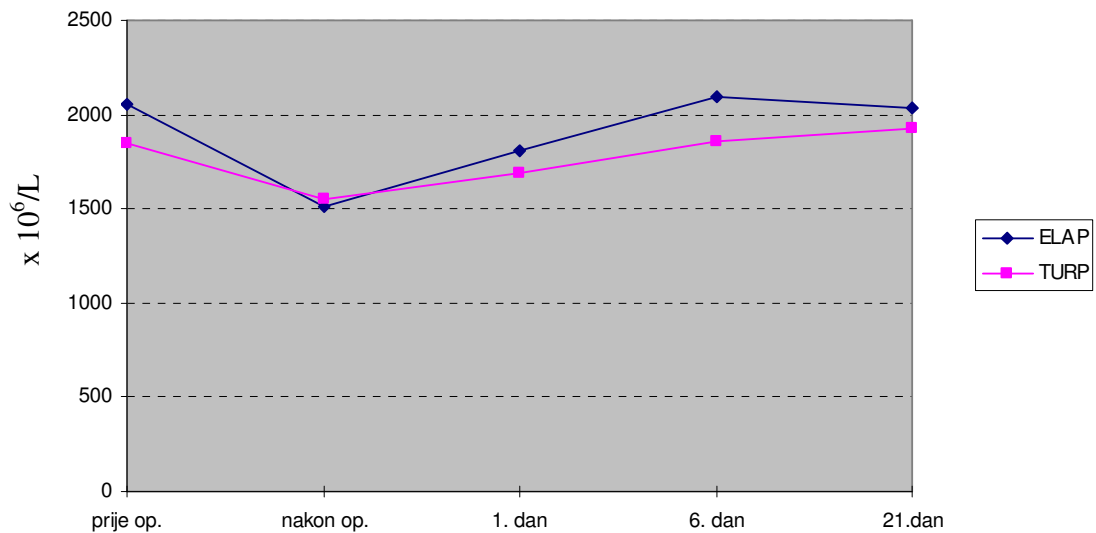
Grafikon 4: Srednje vrijednosti udjela limfocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



U odnosu na početne vrijednosti, broj limfocita u skupini ELAP bio je značajno manji neporedno nakon zahvata i 24 sata nakon zahvata. U skupinu TURP nije nađena razlika u apsolutnom broju limfocita između početne vrijednosti i vrijednosti tijekom praćenja. Broj limfocita nije se vjerodostojno razlikovao između skupina niti u jednoj točki mjerenja (Grafikon 5).



Grafikon 5: Srednje vrijednosti broja limfocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



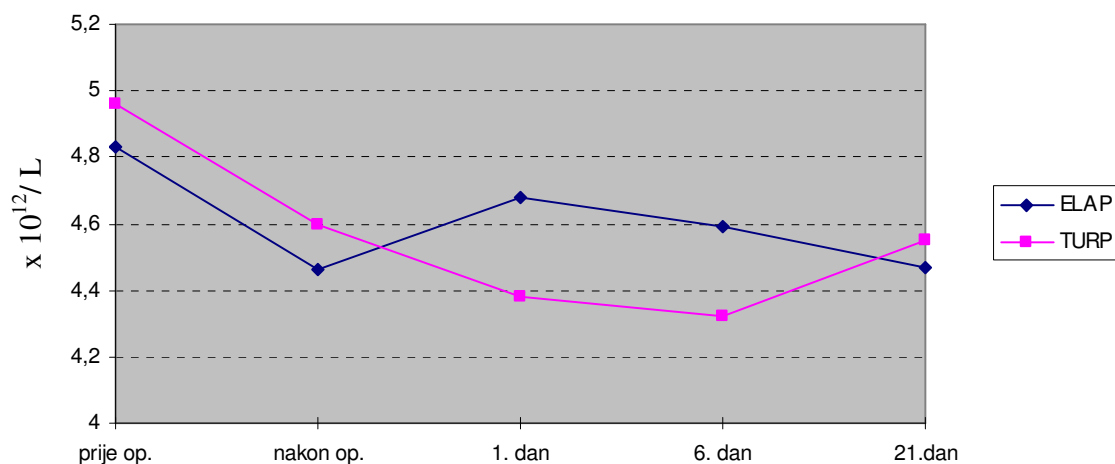
#### ***Udio i broj monocita u perifernoj krvi***

Broj i udio monocita u perifernoj krvi vjerodostojno su se smanjili u odnosu na početne vrijednosti neposredno nakon zahvata ELAP, dok se nakon zahvata TURP broj i udio monocita nije bitno mijenjao, osim 1. postoperativnog dana kada je zabilježeno povećanje broja monocita. Značajna razlika između skupina ELAP i TURP nađena je u broju i udjelu limfocita neposredno nakon zahvata, nakon 24 sata od zahvata, kao i 6. postoperativnog dana. U udjelu nađena je značajna razlika među skupinama i u početnom mjerenju .

#### ***Eritrociti, hematokrit i hemoglobin***

**Broj eritrocita** u perifernoj krvi pokazivao je istu dinamiku u obje skupine bolesnika – smanjenje broja eritrocita u gotovo svim točkama mjerenja u odnosu na vrijednosti prije samog zahvata. Međutim, broj eritrocita nije se značajno razlikovao između ispitivanih skupina niti u jednoj točki mjerenja (Grafikon 6).

Grafikon 6: Srednje vrijednosti broja eritrocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



**Hematokrit** je uglavnom slijedio istu dinamiku kao i broj eritrocita. Međutim, vrijednosti hematokrita bile su značajno niže u bolesnika skupine TURP nego li u skupini ELAP u dvije točke mjerenja – 24 sata nakon zahvata i 6. postoperativnog dana .

I za vrijednosti **hemoglobina** nađeno je prolazno sniženje vrijednosti tijekom praćenja u obje skupine, ali i značajno niže vrijednosti hemoglobina u skupini TURP nego u skupini ELAP 1. i 6. postoperativnog dana.

#### ***Broj trombocita u perifernoj krvi***

U odnosu na početne vrijednosti prije zahvata, broj trombocita u perifernoj krvi bio je prolazno snižen u skupini ELAP neposredno nakon zahvata i 1. postoperativnog dana. Nasuprot, u skupini TURP zabilježen je značajan porast broja trombocita 21. postoperativnog dana. Značajna razlika između skupina nađena je 1. postoperativnog dana, kad su izmjerene niže vrijednosti trombocita u skupini TURP.

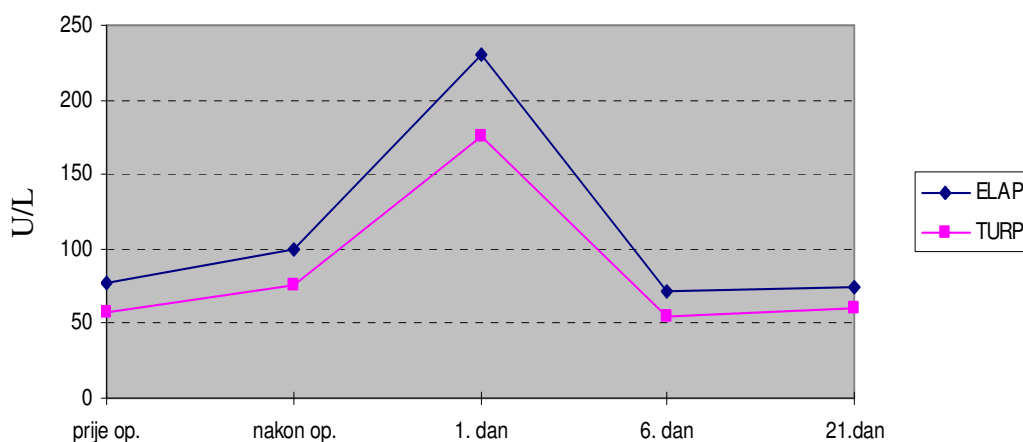
#### ***Biokemijski pokazatelji***

Analizirani su slijedeći biokemijski pokazatelji: kreatinin, urea, AST, ALT, GGT, ALP, CPK i šećer u krvi (Tablica 3).

Uspoređujući biokemijske pokazatelje prije i nakon učinjenih zahvata, nije nađena značajna razlika u vrijednostima ispitivanih analiza unutar pojedine skupine, a niti između skupina. Izuzetak su jedino vrijednosti **enzima CPK**, koje su bile povišene u

odnosu na početne vrijednosti u obje skupine bolesnika neposredno nakon zahvata i 24 sata nakon zahvata. U skupini ELAP porast CPK bio je izraženiji nego li u skupini TURP, međutim razlika među skupinama nije značajna. Vrijednosti CPK nisu se razlikovale od početnih vrijednosti nakon 6. i 21. dana od učinjenog zahvata( Grafikon 7).

Grafikon 7: Srednje vrijednost CPK prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



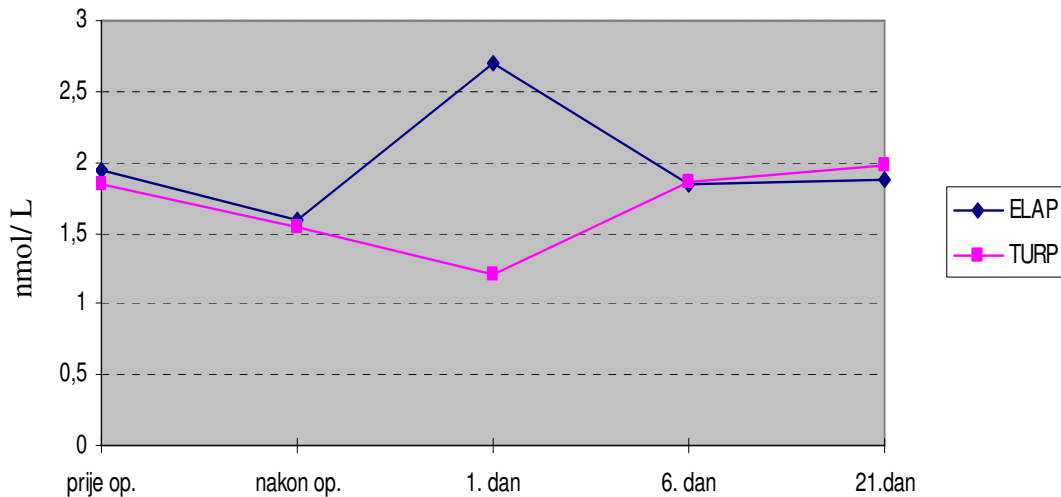
### Endokrinološki pokazatelji

U praćenju endokrinološkog statusa nakon zahvata na prostati ispitani su ovi hormoni: T3, T4, TSH, kortizol i ACTH (Tablica 4).

#### *Trijod-tironin (T3)*

Razina T3 u krvi slijedila je različitu dinamiku u skupinama ELAP i TURP. Dok je u skupini ELAP zabilježen pad koncentracije T3 u krvi neposredno po učinjenom zahvatu i potom nagli porast koncentracije T3 nakon 24 sata od zahvata, u skupini TURP nađeno je sniženje razine T3 u obje točke mjerenja. Budući da su vrijednosti T3 značajno porasle u odnosu na početne vrijednosti 24 sata nakon zahvata ELAP, a u skupini TURP pale, taj je porast uzrokom značajne razlike u razini T3 između skupina (Grafikon 8).

Grafikon 8: Srednje vrijednosti T3 prije i nakon zahvata u skupini ELAP i TURP



#### ***Tiroksin (T4)***

U odnosu na početne vrijednosti, razina T4 bila je značajno niža neposredno po zahvatu (ELAP), odnosno 24 sata nakon zahvata (TURP). Međutim, vrijednosti T4 nisu se razlikovale između skupina niti u jednoj točki mjerenja.

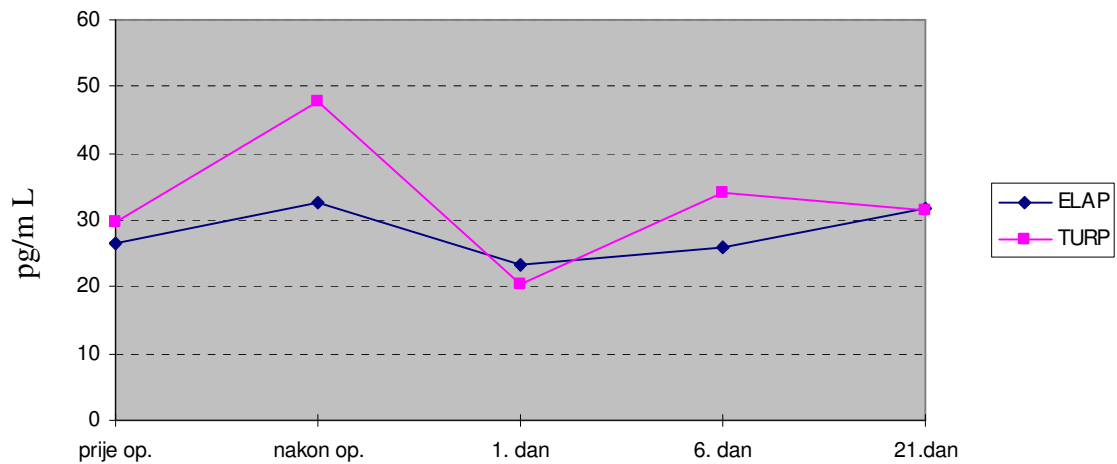
#### ***TSH***

U obje skupine izmjereno je vjerodostojno sniženje serumske razine TSH neposredno nakon zahvata. Vrijednosti TSH nisu se razlikovale između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja .

#### ***ACTH***

Premda je razina ACTH u krvi u objema skupinama porasla neposredno nakon zahvata, statistički značajna razlika u odnosu na početnu vrijednost nađena je samo u skupini TURP. Nepostojanje statističke značajnosti u toj točki mjerenja u odnosu na skupinu ELAP, vjerojatno je posljedicom velike standardne devijacije, odnosno velikog raspona izmjerenih vrijednosti u toj točki mjerenja. Razina ACTH u krvi nije se razlikovala između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja (Grafikon 9).

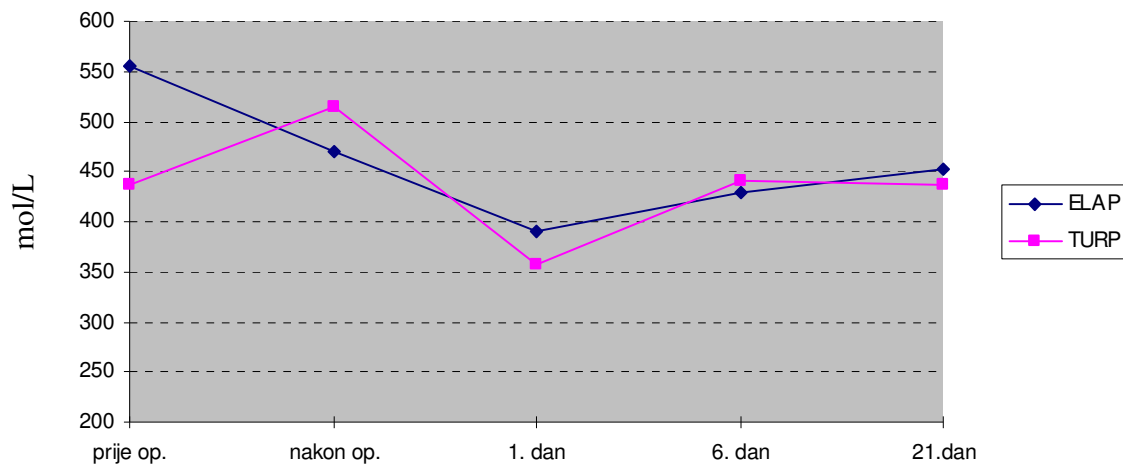
Grafikon 9: Srednje vrijednosti ACTH prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



### ***Kortizol***

U skupini ELAP nađeno je statistički značajno sniženje vrijednosti serumske razine kortizola u zadnja tri mjerenja u odnosu na početne vrijednosti. U skupini TURP nađena je različita dinamika razine kortizola u krvi: nakon porasta razine neposredno po zahvatu, došlo je do sniženja razine kortizola 24 sata nakon zahvata i normalizacije 6. postoperativnog dana (razlika nije statistički značajna najvjerojatnije zbog velike standardne devijacije). Nije nađena značajna razlika u razini kortizola između skupina ELAP i TURP, vjerojatno zbog već uočenog velikog rasapa vrijednosti (Grafikon 10).

Grafikon 10: Srednje vrijednosti kortizola prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



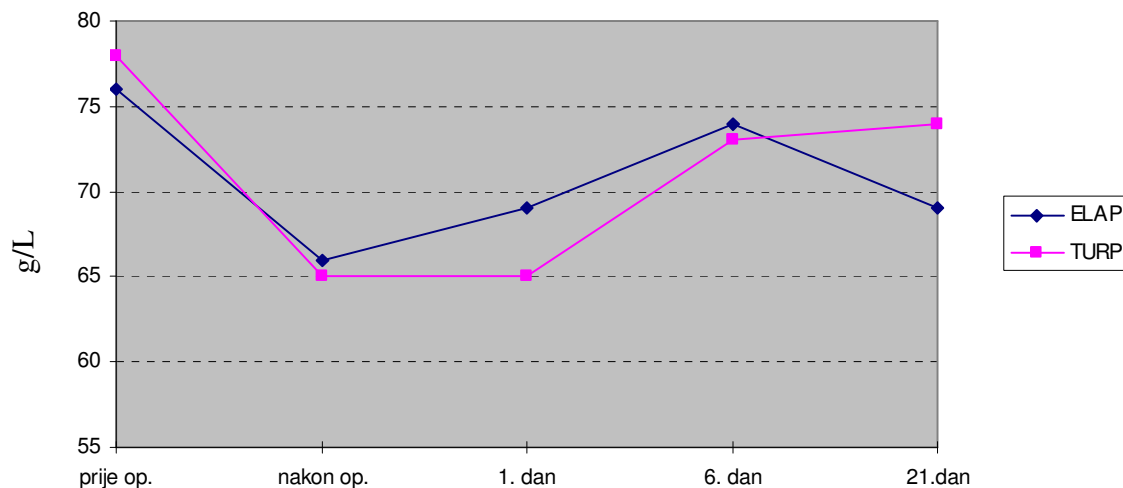
### Serumski proteini

Analizirani su ukupni proteini u serumu i ove proteinske frakcije – albumini,  $\alpha$ 1-globulini,  $\alpha$ 2-globulini,  $\beta$ -globulini,  $\gamma$ -globulini, imunoglobulini, komponente komplementa C3 i C4, te C-reaktivni protein (CRP) (Tablica 5). Rezultati analize proteina koji čine aktivnu sastavnicu imunosnog sustava (imunoglobulini, komponente komplementa i CRP) opisani su zasebno.

#### *Ukupni serumski proteini*

Značajno sniženje koncentracije ukupnih proteina u serumu u odnosu na vrijednosti prije zahvata nađene su u objema skupinama u gotovo svim mjerenjima. Nije nađena značajna razlika u koncentraciji serumskih proteina između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja (Tablica 5) (Grafikon 11).

Grafikon 11: Srednje vrijednosti serumskih proteina prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



### *Albumini*

Razina albumina pokazuje sličan trend kao i ukupni proteini, što je i razumljivo jer oni čine najveći udio proteina.

U skupini TURP nađene su niže koncentracije  **$\alpha$ 1-globulina** neposredno nakon zahvata i 24 sata nakon zahvata, ali bez statističke značajnosti. Ni razina  $\alpha$ 1-globulina nije se razlikovala među ispitivanim skupinama niti u jednoj točki mjerenja.

### *$\alpha$ 2-globulini*

Vrijednosti  **$\alpha$ 2-globulina** bile su vjerodostojno niže u obje skupine neposredno nakon zahvata te 24 sata nakon zahvata. Međutim, statistički vjerodostojna razlika između ispitivanih skupina nije nađena niti u jednoj točki mjerenja.

### *$\beta$ -globulini*

Vrijednosti  **$\beta$ -globulina** bile su značajno niže u odnosu na početne vrijednosti u obje skupine neposredno nakon zahvata te 24 sata nakon zahvata. Međutim, statistički značajna razlika između ispitivanih skupina nije nađena niti u jednoj točki mjerenja.

### *$\gamma$ -globulini*

Vrijednosti  **$\gamma$ -globulina** bile su značajno niže u odnosu na početne vrijednosti u obje skupine neposredno nakon zahvata i 24 sata nakon zahvata, a u skupini TURP i 6.

postoperativnog dana. Međutim, statistički značajna razlika između ispitivanih skupina nije nađena niti u jednoj točki mjerenja.

### ***Imunoglobulini, komponente komplemента i C-reaktivni protein***

Od proteina koji imaju važnu ulogu u obrani i održanju integriteta organizma analizirani su imunoglobulini A, G i M (IgA, IgG i IgM), komponente komplemента C3 i C4, te C-reaktivni protein (CRP) (Tablica 6).

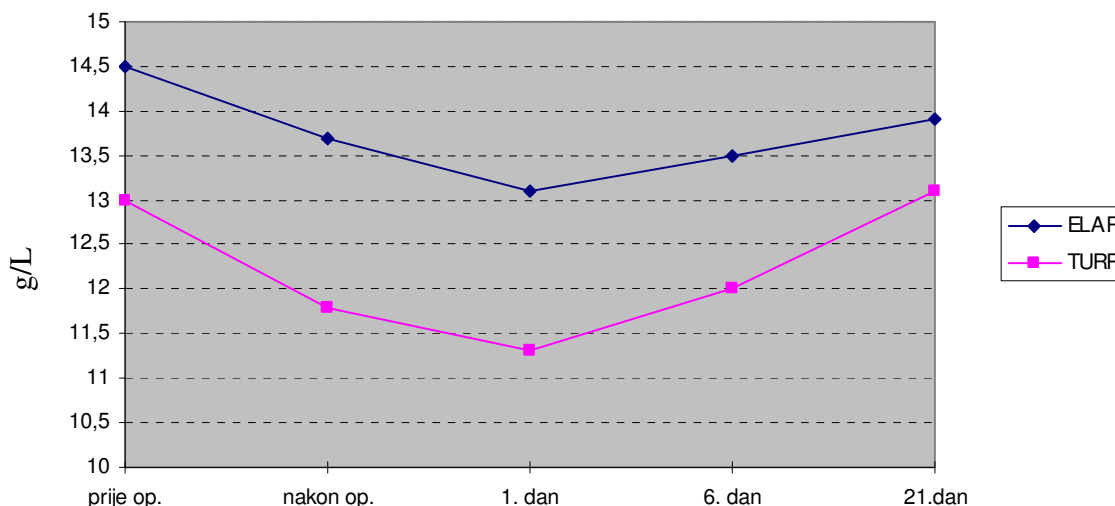
#### ***IgA i IgM***

Vrijednosti **IgA i IgM** nisu se značajno razlikovale između skupina, odnosno unutar skupina u odnosu na početne vrijednosti.

#### ***IgG***

U odnosu na početne vrijednosti prije zahvata, značajno sniženje koncentracije IgG u skupini ELAP nađeno je 24 sata i 7. dana od zahvata, dok je u skupini TURP značajan pad IgG nađen neposredno nakon zahvata, 24 sata nakon zahvata, kao i 7. postoperativnog dana. Vrijednosti **IgG** nisu se značajno razlikovale između skupina ELAP i TURP (Grafikon 12).

Grafikon 12: Srednje vrijednosti IgG prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



#### ***C3-komponenta komplemента***

Koncentracija **C3** u serumu nije se značajno razlikovala između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja, niti su razlike nađene u skupini ELAP. Značajno sniženje C3



u odnosu na početne vrijednosti nađeno je u skupini TURP neposredno nakon zahvata i 24 sata nakon zahvata, a povišenje razine tog proteina nađeno je 7. postoperativnog dana.

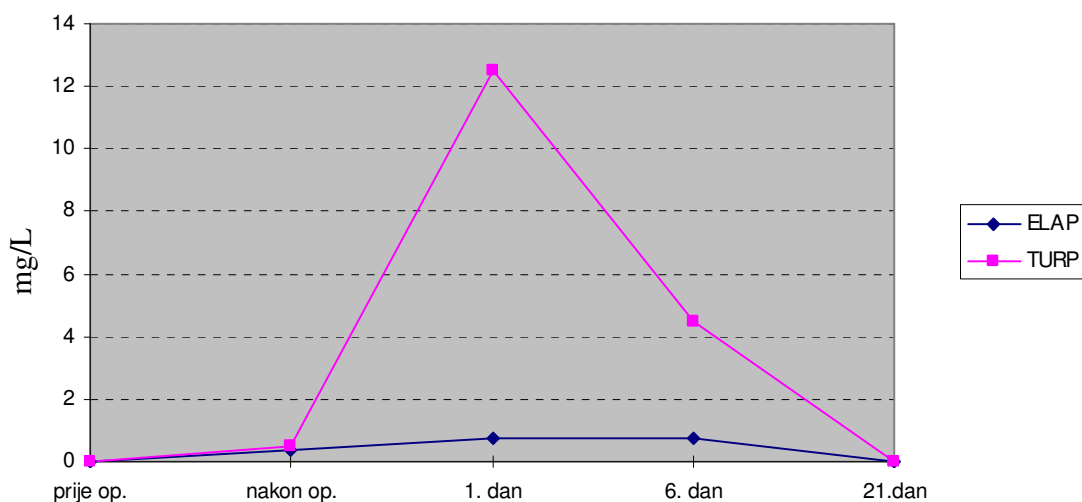
#### ***C4-komponenta komplemента***

U skupini ELAP značajno sniženje C4 nađeno je neposredno nakon zahvata. U skupini TURP nađeno je značajno sniženje koncentracije C4 neposredno nakon zahvata i 24 sata nakon zahvata, dok je 6. i 21. postoperativnog dana nađeno povišenje razine C4 u serumu. Kao i u slučaju C3, nije nađena značajna razlika u koncentraciji C4 između skupina ELAP i TURP.

#### ***CRP***

U skupini ELAP nije nađena značajna razlika koncentracije CRP u odnosu na početne vrijednosti niti u jednoj točki mjerenja. Nasuprot, u skupini TURP razlika je nađena 1. i 6. postoperativnog dana. Sveukupno, značajna razlika u koncentraciji CRP između skupina ELAP i TURP nađena je 24 sata nakon zahvata 6. postoperativnog dana (Grafikon 13).

Grafikon 13: Srednje vrijednosti CRP prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



#### **Udio i broj limfocitnih subpopulacija u perifernoj krvi**

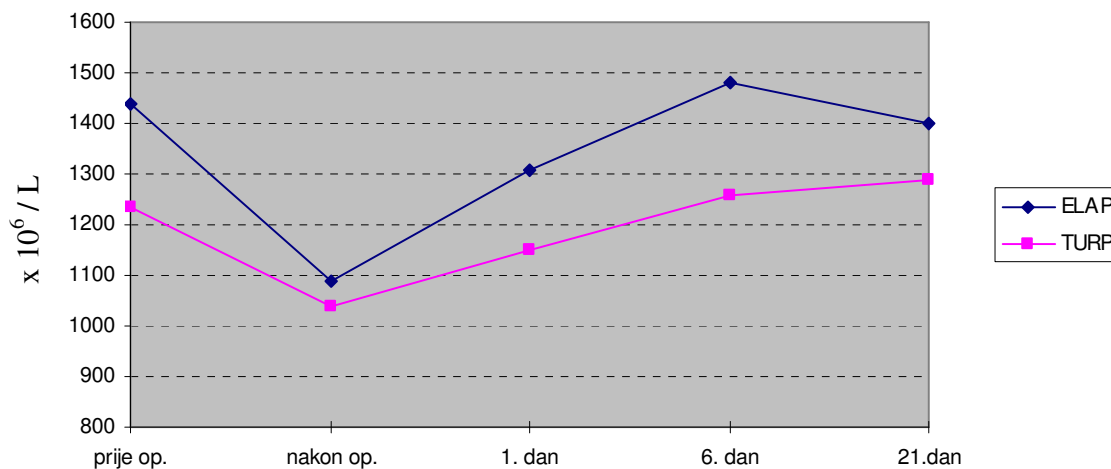
U svih su bolesnika određeni udjeli i apsolutni brojevi ovih limfocitnih subpopulacija u perifernoj krvi: T-limfocita (CD3+), svih CD4+ stanica, svih CD8+ stanica, CD3+CD4+ pomagačkih T-limfocita, CD3+CD8+ citotoksičnih T-limfocita, CD19+ B-limfocita, svih

limfocita koji izražavaju receptor za Fc-regiju ljudskog IgG (CD16+), CD3-CD16+56+ NK-stanica, T-limfocita s biljekom NK-stanica (CD3+CD16+56+), aktiviranih T-limfocita (CD3+HLA-DR+), limfocita s izražajem receptora za interleukin 2 (CD25+) i T-limfocita s receptorom za IL-2 (CD3+CD25). Iz udjela i broja CD4+ i CD8+ stanica izračunat je njihov međusobni omjer (CD4/CD8) (Tablica 7).

### ***CD3+ T-limfociti***

Ni broj, niti udio CD3+ T-limfocita nije se značajno razlikovao između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki praćenja nakon zahvata, a razlika nije nađena niti za *udio* T-limfocita unutar svake ispitivane skupine. Značajan pad *broja* T-limfocita u odnosu na početne vrijednosti nađen je neposredno nakon zahvata i u skupini ELAP i u skupini TURP (Grafikon 14).

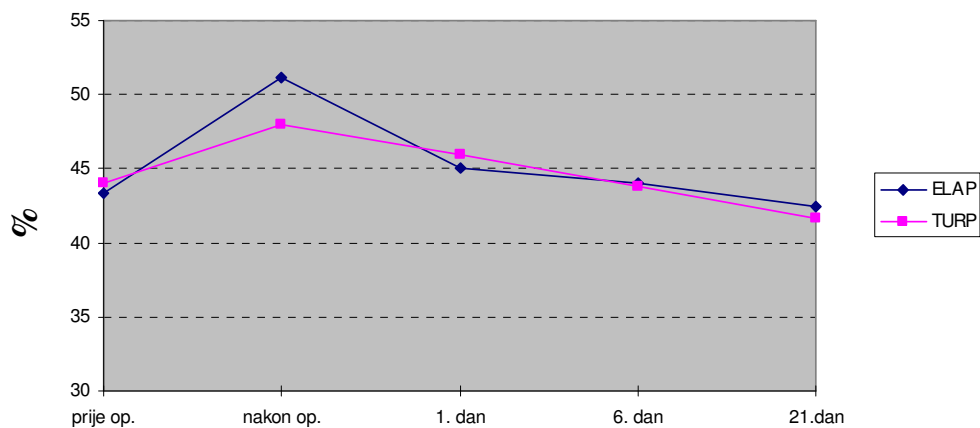
Grafikon 14: Srednje vrijednosti broja CD3+ T-limfocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



### ***CD4+ limfociti periferne krvi***

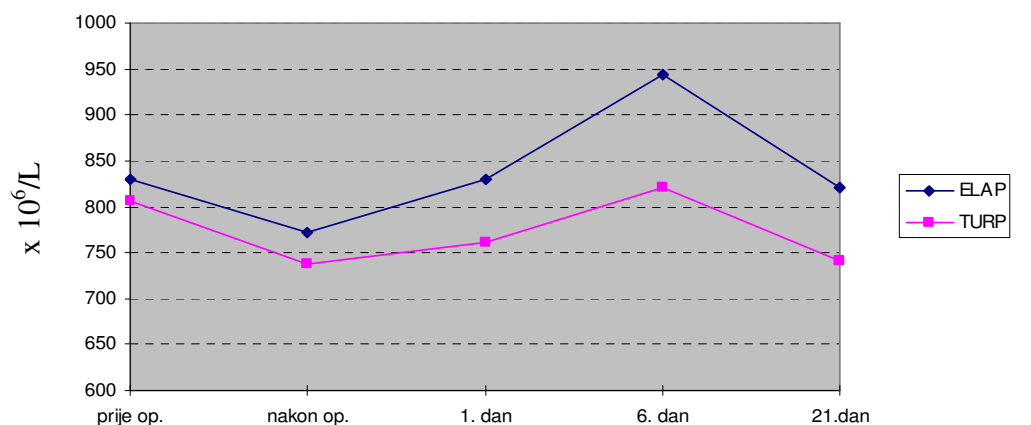
Među CD4+ stanicama periferne nalaze se pomagački T-limfociti te monociti. Protočno citometrijska analiza CD4+ stanica ograničila se samo na stanice veličine limfocita. U obje skupine opažen je trend povećanja *udjela* CD4+ stanica neposredno nakon zahvata, ali je ta razlika bila značajna samo u skupini ELAP (Grafikon 15).

Grafikon 15: Srednje vrijednosti udjela CD4+ limfocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



Nasuprot udjelu, broj CD4+ periferne krvi pokazivao je trend sniženja neposredno nakon zahvata u objema skupinama, ali je značajna razlika nađena samo u bolesnika skupine ELAP. U istoj skupini nađen je povećan broj CD4+ stanica u odnosu na početne vrijednosti 6. postoperativnog dana (Grafikon 16).

Grafikon 16: Srednje vrijednosti broja CD4+ T-limfocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP

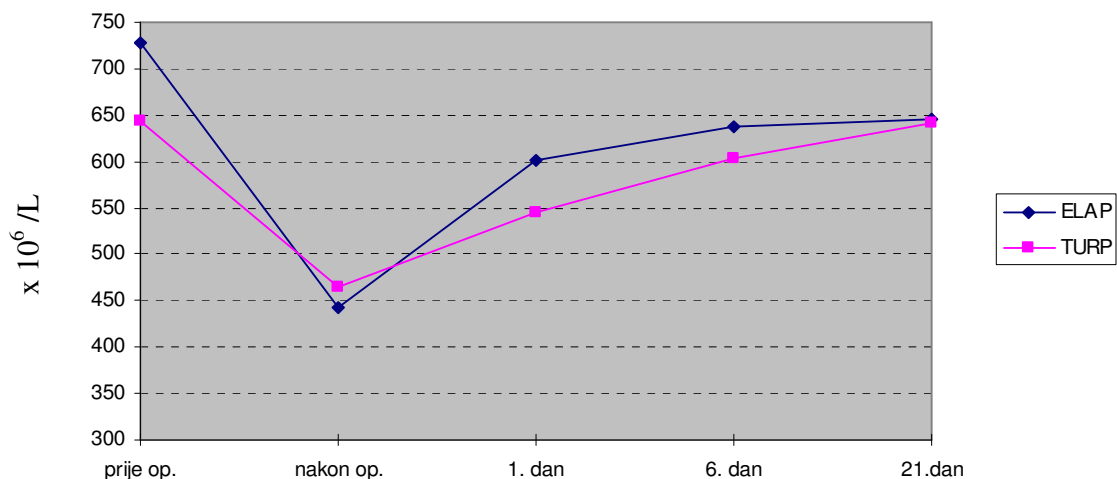


Sveukupno, ni *broj*, niti *udio* CD4+ stanica periferne krvi nije se značajno razlikovao između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja .

### ***CD8+ limfociti periferne krvi***

Među CD8+ limfocitima periferne krvi nalaze se citotoksični T-limfociti i dio NK-stanica. Analiza limfocita samo prema izražaju biljega CD8 ne može razlikovati citotoksične T-limfocita od NK-stanica. Unutar objiju skupina nađeno je sniženje *i broja i udjela* CD8+ stanica nakon zahvata. *Udio* CD8+ stanica bio je značajno niži neposredno nakon učinjenog zahvata, dok je *broj* CD8+ stanica u odnosu na početne vrijednosti u objema skupinama bio vjerodostojno niži neposredno nakon zahvata, kao i prvog postoperativnog dana (Grafikon 17).

Grafikon 17: Srednje vrijednosti broja CD8+ stanica prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



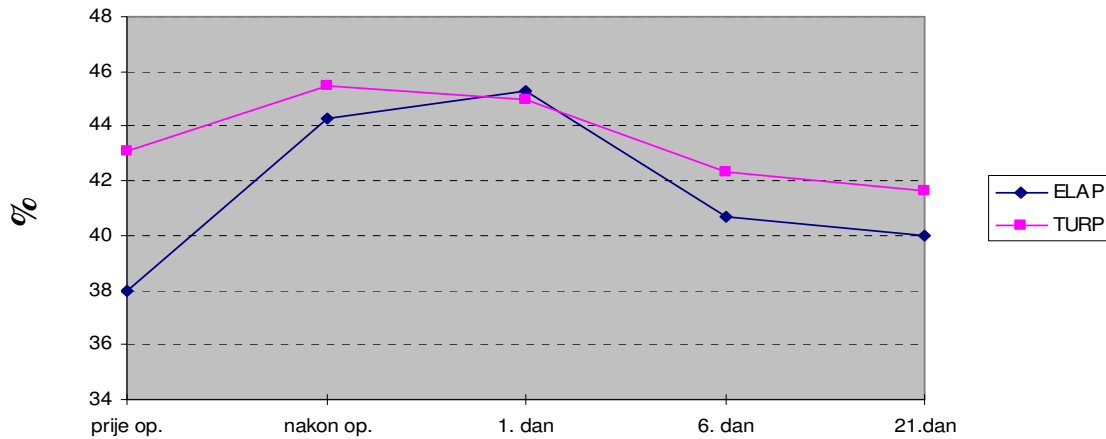
Nije nađena vjerodostojna razlika ni u udjelu, niti u broju CD8+ limfocita periferne krvi između ispitivanih skupina.

### ***Pomagački T-limfociti (CD3+CD4+ T-limfociti)***

Limfociti koji na membrani izražavaju biljege CD3+ i CD4+ pripadaju isključivo subpopulaciji pomagačkih T-limfocita. *Udio* CD3+CD4+ stanica u odnosu na početne vrijednosti nije se značajno razlikovao unutar skupine TURP, dok je u broju nađeno vjerodostojno smanjenje neposredno nakon zahvata. Unutar skupine ELAP nije bilo

razlika u broju, dok je u udjelu nađeno značajno uvećanje prvog dana nakon zahvata (Grafikon 18).

Grafikon 18: Srednje vrijednosti udjela CD3+CD4+ T-limfocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP

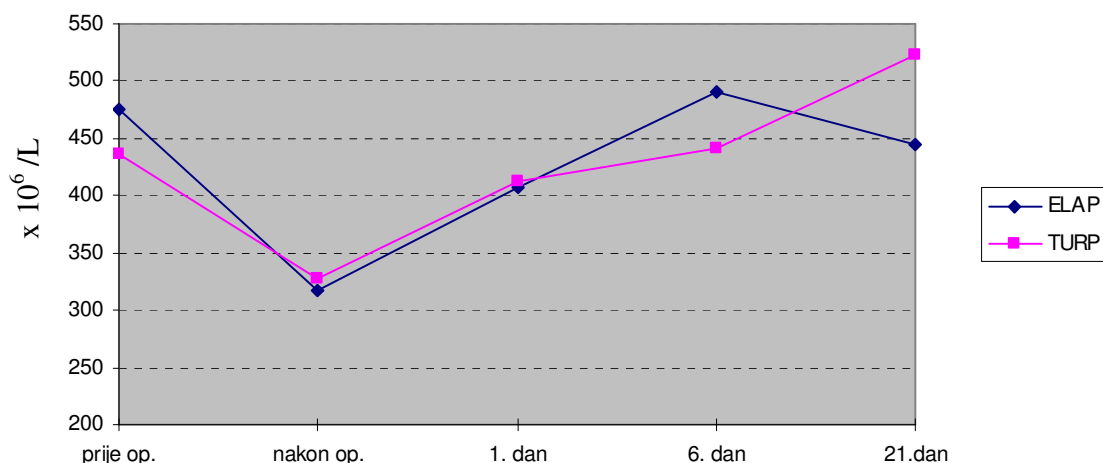


Nije nađena značajna razlika ni u broju, niti u udjelu pomagačkih limfocita periferne krvi između ispitivanih skupina.

#### ***Citotoksični T-limfociti (CD3+CD8+ T-limfociti)***

Unutar skupina nije nađena razlika ni u udjelu, niti u broju citotoksičnih T-limfocita u odnosu na početne vrijednosti, osim neposredno nakon učinjenog zahvata u obje skupine kad je zabilježeno sniženje *broja* i *udjela* citotoksičnih T-limfocita (Grafikon 19).

Grafikon 19: Srednje vrijednosti broja CD3+CD8+ limfocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP

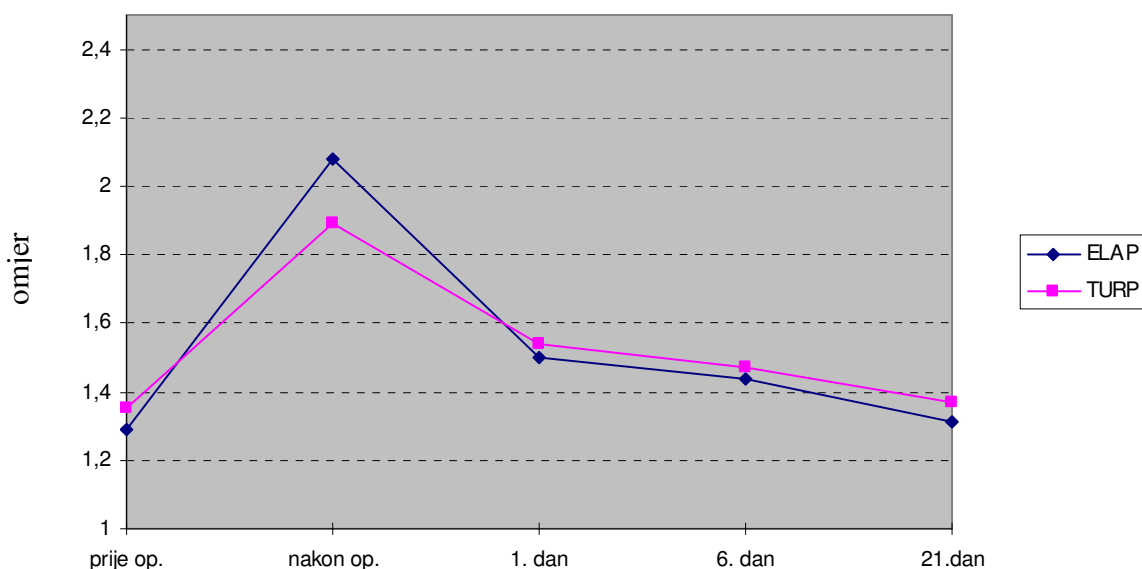


Nije nađena značajna razlika ni u udjelu, niti u broju CD8+ limfocita periferne krvi između ispitivanih skupina.

#### ***Omjer između pomagačkih i citotoksičnih T-limfocita***

Omjer između pomagačkih i citotoksičnih T-limfocita mjera je imunskog statusa organizma i normalno se kreće u rasponu od 1 do 3. Izražen kao omjer između svih CD4+ i CD8+ stanica periferne krvi nije nađena statistički značajna razlika između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja. Unutar obje skupine, međutim, opaženo je povećanje omjera u odnosu na početne vrijednosti nakon zahvata, ali je statistički bitno povećanje omjera CD4/CD8 nađeno samo 1. i 6. dana nakon zahvata ELAP. Kad je omjer pomagačkih i citotoksičnih T-limfocita izražen kao omjer CD3+CD4+ i CD3+CD8+ opet nije nađena statistički značajna razlika između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja. Unutar skupina, ponovno je uočeno povećanje omjera u odnosu na početnu vrijednost. Međutim, sada je uočeno značajno povećanje u objema skupinama neposredno nakon zahvata, značajnije u skupini ELAP (Grafikon 20).

Grafikon 20: Omjer između CD3+CD4+ i CD3+CD8+ T-limfocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



### ***B-limfociti periferne krvi***

Broj i udio **CD19+ B-limfocita** periferne krvi nisu se razlikovali između skupina niti u jednoj točki mjerenja, a statistički značajna razlika nije nađena niti unutar ispitivanih skupina .

### ***Limfociti s izražajem receptora za interleukin-2 (CD25+)***

Limfociti koji izražavaju receptor za interleukin-2 (**CD25+ limfociti**) predstavljaju tzv. podražene (aktivirane) limfocite i često se rabe za procjenu stupnja aktiviranja limfocita. U odnosu na početne vrijednosti, u skupini ELAP nađeno je značajno sniženje *broja* CD25+ limfocita neposredno nakon zahvata, te porast nakon 24 sata , kao i nakon 6 dana od zahvata. U skupini TURP ponavlja se također težnja povećanja broja CD25+ stanica nakon zahvata, ali te razlike nisu bile bitne. Nije nađena statistička značajna razlika ni u *udjelu* niti u *broju* CD25+ limfocita periferne krvi između ispitivanih skupina bolesnika niti u jednoj točki mjerenja.

### ***Aktivirani T-limfociti (CD3+25+ T-limfociti)***

T-limfociti koji izražavaju receptor za interleukin-2 (**CD3+CD25+ T-limfociti**) jesu aktivirani T-limfociti. U skupini ELAP *udio i broj* tih stanica nije se bitnije mijenjao u odnosu na početne vrijednosti. U skupini TURP nađeno je značajno povećanje i *udjela i broja* aktiviranih T-limfocita nakon zahvata. Međutim, razlike u udjelu i broju CD25+ T-limfocita između ispitivanih skupina bolesnika nisu nađene.

### ***HLA-DR+ limfociti***

Među stanicama periferne krvi koje izražavaju molekulu II. razreda HLA-DR (**HLA-DR<sup>+</sup>-limfociti**) nalaze se B-limfociti i aktivirani T-limfociti. U objema skupinama bolesnika nađeno je sniženje *broja* HLA-DR+ stanica neposredno nakon zahvata. No dok u skupini ELAP taj pad nije dosegnuo statističku značajnost u odnosu na početne vrijednosti, u skupini TURP ta je razlika bila statistički značajna. Premda kasnije nije nađena razlika u broju HLA-DR+ stanica unutar skupina, razlika je nađena za vrijednosti između skupina ELAP i TURP 6. i 21. dana. Sličan nalaz dobiven je i za *udio* HLA-DR+ stanica periferne krvi, s tom razlikom da je u skupini TURP nađeno povećanje udjela HLA-DR+ stanica 6. i 21. postoperativnog dana u odnosu na početne vrijednosti razlika.

### ***HLA-DR+ T-limfociti periferne krvi***

T-limfociti koji izražavaju biljeg HLA-DR (**CD3+HLA-DR+ T-limfociti**) jesu aktivirani T-limfociti. No, za razliku od biljega CD25, koji označava biljeg tzv. rane aktiviranosti limfocita, biljeg HLA-DR jest pokazatelj koji se na T-limfocitu izražava u kasnijim fazama aktiviranosti. Premda je nađeno sniženje *broja* tih stanica nesporedno nakon obaju zahvata, značajna je razlika dokazana samo u skupini ELAP. Glede *udjela* HLA-DR+ T-limfocita, u objema skupinama nađeno je sniženje tih stanica neposredno nakon zahvata, a u skupini TURP i u kasnijem postoperativnom praćenju. Međutim, ta razlika nije statistički značajna. Nije nađena ni razlika u *broju i udjelu* CD3+HLA-DR+ T-limfocita između skupina ELAP i TURP, vjerojatno zbog velikog rasapa vrijednosti u objema skupinama.

### ***CD16+ limfociti periferne krvi***

Limfocite periferne krvi koji izražavaju receptor za Fc-regiju imunoglobulina (Fc-RI, CD16) čine NK-stanice i manji udio T-limfocita. *Broj i udio* **CD16+ limfocita** nisu se

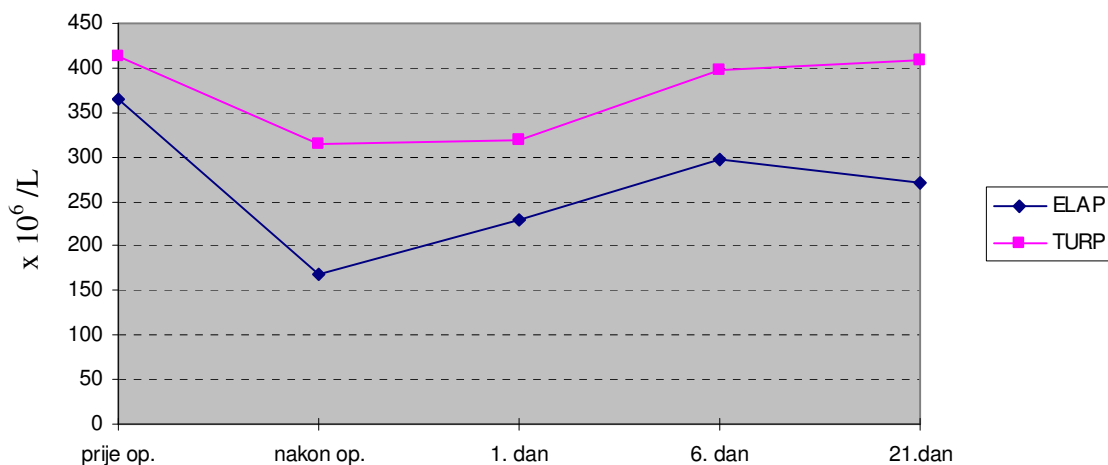


razlikovali između skupina niti u jednoj točki mjerenja, kao niti u skupini TURP. U skupini ELAP zabilježeno je značajno sniženje broja CD16+ limfocita u odnosu na početne vrijednosti neposredno nakon zahvata, dok razlika u udjelima stanica nije nađena (Tablica 7).

#### ***NK-stanice (CD3-CD16+56+) periferne krvi***

Prirođenoubilačke ili NK-stanice periferne krvi definiraju se neizražajem biljega CD3 i izražajem biljega CD16 i CD56. Glede udjela NK-stanica, on je u objema skupinama bio bitno snižen u odnosu na početne vrijednosti neposredno nakon zahvata (Tablica 7). To se je isto tako odrazilo i na sniženje broja NK-stanica u tom mjerenju, s tim da je i u idućem mjerenju broj u objema skupinama bio značajno niži. Među skupinama nađeno je izraženije sniženje broja NK-stanica neposredno nakon zahvata u skupini ELAP nego u skupini TURP (Grafikon 21).

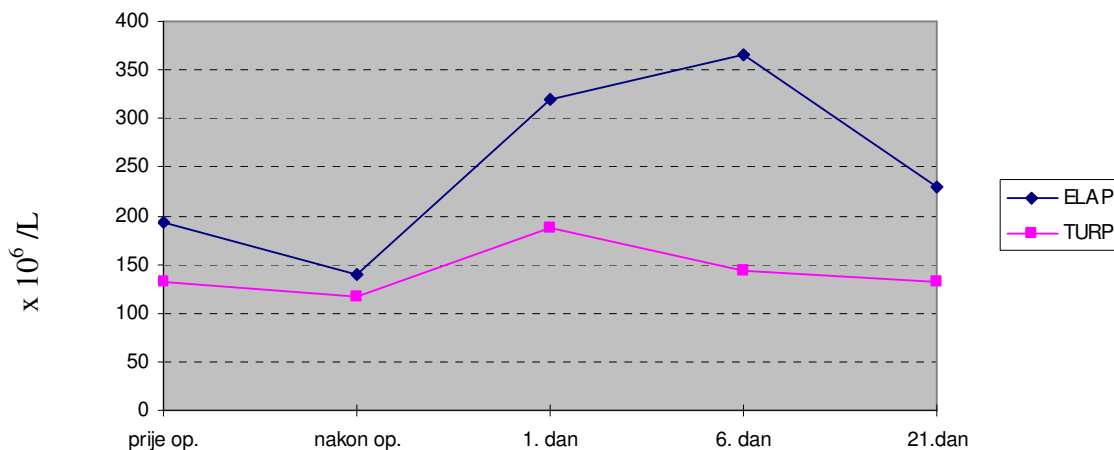
Grafikon 21: Srednje vrijednosti broja NK-stanica prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



Udio T-limfocita s izražajem biljega CD3+CD16+56+ značajno je porastao u odnosu na početnu vrijednost u skupini ELAP u 1. i 6. postoperativnom danu, dok slična težnja nije opažena u skupini TURP (Tablica 7). Taj se porast udjela CD3+CD16+56+ T-limfocita odrazio i na povećanje broja tih stanica u istim točkama mjerenja, što je dovelo do

statističke značajne razlike u broju CD3+CD16+56+ stanica između skupina ELAP i TURP (Tablica 7) (Grafikon 22).

Grafikon 22: Srednje vrijednosti broja CD3+CD16+56+ T-limfocita prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



### **Proliferacija limfocita na mitogenike *in vitro***

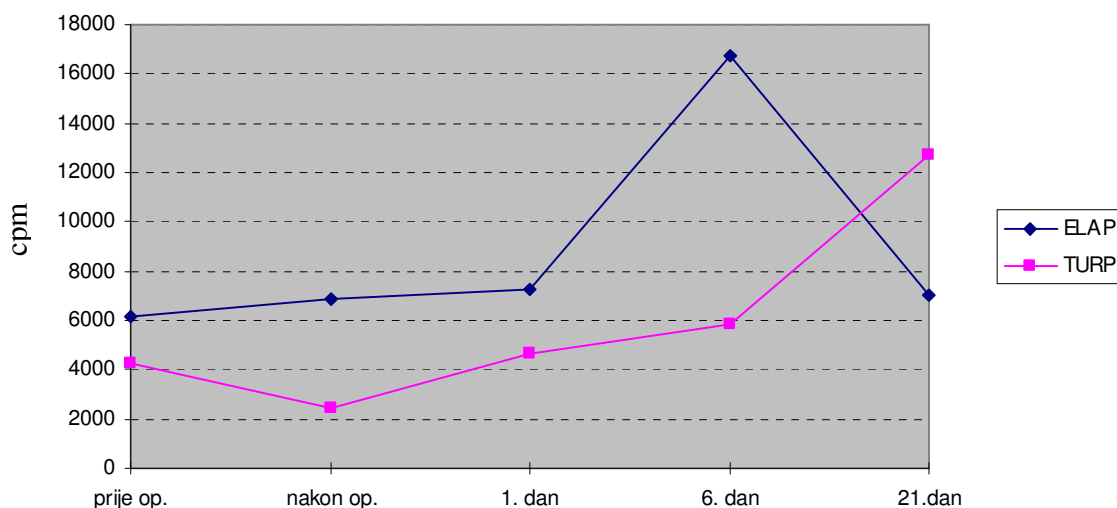
Funkcijsko ispitivanje limfocita periferne krvi prije i nakon zahvata sastojalo se od nespecifične stimulacije proliferacije limfocita *in vitro* s pomoću mitogenika fitohemaglutinina (PHA), konkanavalina A (ConA) i korovskog mitogenika (engl. pokeweed-mitogen, PWM). Rezultati limfocitne proliferacije izraženi su u apsolutnim vrijednostima (otkucaji u minuti, engl. counts per minute, cpm) i indeksom stimulacije (SI), pri čemu SI predstavlja omjer između cpm stimulirane i nestimulirane (kontrolne) kulture limfocita. Budući da su svi parametri praćeni kroz nekoliko vremenskih točaka nakon zahvata ELAP i TURP, svi su rezultati dodatno prikazani i u odnosu na početne vrijednosti prije zahvata.

### **Mitogenik PWM**

Proliferacija limfocita na PWM u skupini ELAP nije se značajno mijenjala u odnosu na početnu vrijednost sve do 6. postoperativnog dana, kad je nađeno značajno povećanje stope proliferacije. Ta se razlika, međutim, više nije uočila 21. postoperativnog dana. Stopa proliferacije limfocita u skupini TURP pokazuje drugačiju dinamiku: isprva dolazi do sniženja stope proliferacije neposredno po učinjenu zahvatu (iako ne statistički

značajne), nakon čega dolazi do povećanja stope proliferacije 21. postoperativnog dana. Različita dinamika proliferacije limfocita u skupinama ELAP i TURP dovela je do statistički vjerodostojne razlike između skupina u dvjema točkama mjerenja: neposredno nakon zahvata i 6. postoperativnog dana. U oba slučaja stopa proliferacije stanica u skupini ELAP bila je znatno veća nego u skupini TURP (Tablica 8). Veća stopa proliferacije limfocita u skupini TURP 21. postoperativnog dana nije bila statistički značajna (Grafikon 22).

Grafikon 23: Srednje vrijednosti proliferacije limfocita na PWM (cpm) prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP

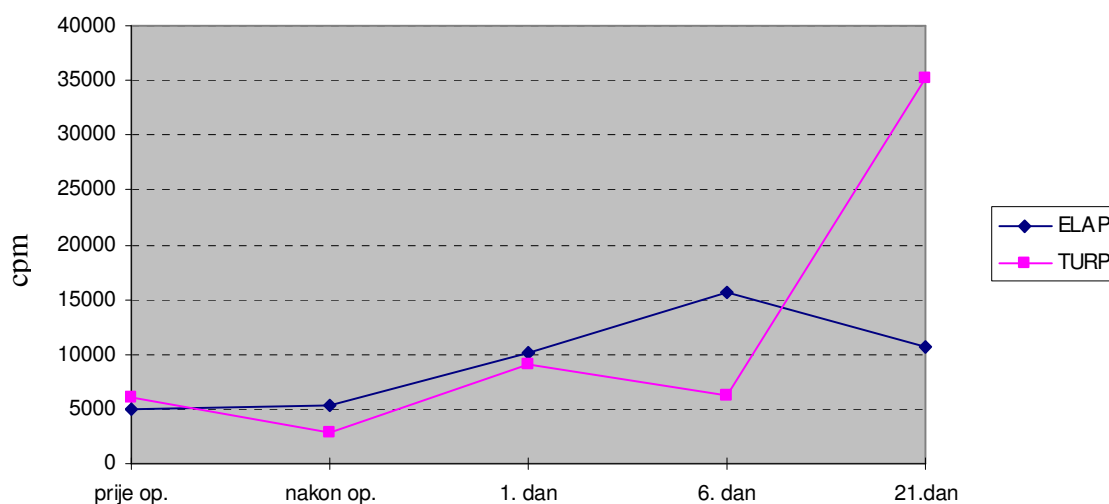


Kad su u analizu uvršteni indeksi stimulacije (SI), uočeno je prolazno sniženja stimulacije u obje skupine, s time da je u skupini ELAP to sniženje bilo izraženo 1. i 6. postoperativnog dana, a u skupini TURP samo u 1. postoperativnom danu (Tablica 8). U objema skupinama vjerodostojno sniženje SI u odnosu na početne vrijednosti pokazano je samo za 1. postoperativni dan. Bitno niža vrijednost SI u skupini TURP nego u skupini ELAP nađena je prije zahvata, neposredno nakon zahvata i 1. postoperativnog dana. Sniženje SI unatoč povećanim apsolutnim vrijednostima (cpm) u pojedinim točkama mjerenja posljedica je povećane spontane aktivnosti u nestimuliranim kulturama limfocita ispitanika..

### ***Concavalin A (ConA)***

Stopa proliferacije (cpm) limfocita na ConA u skupini ELAP pokazivala je težnju povećanja nakon zahvata, ali je bitno povećanje u odnosu na početnu vrijednost zabilježeno samo 6. postoperativnog dana, slično kao i za mitogenik PWM (Tablica 8). Ta se razlika, međutim, više nije uočila 21. postoperativnog dana. Stopa proliferacije limfocita u skupini TURP pokazuje drugačiju dinamiku: isprva dolazi do sniženja stope proliferacije neposredno po učinjenom zahvatu, da bi došlo do statistički značajnog povećanja stope proliferacije 1. i 21. postoperativnog dana. Različita dinamika proliferacije limfocita u skupinama ELAP i TURP dovela je do bitne razlike između skupina 21. postoperativnog dana, kad je je stopa proliferacije u skupini TURP bila znatno veća nego u skupini ELAP (Tablica 8) (Grafikon 23).

Grafikon 24: Srednje vrijednosti proliferacije limfocita na ConA (cpm) prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



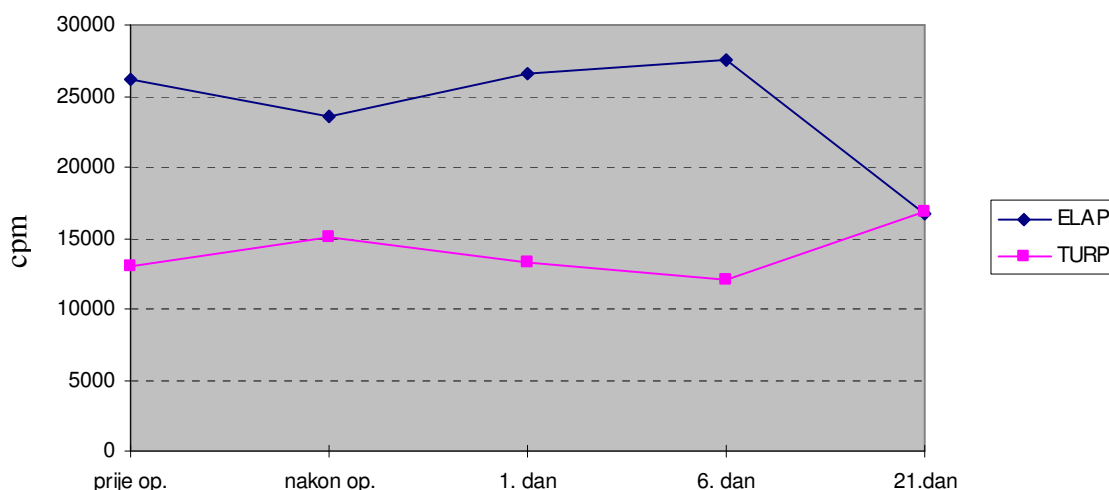
Kad su u analizu uvršteni indeksi stimulacije (SI), uočeno je prolazno sniženje SI u skupini TURP, ali ta razlika nije bila relevantna. To sniženje se, ipak, odrazilo na razliku u SI između ELAP i TURP neposredno i 1. dana nakon zahvata, kad je SI u skupini

TURP bio značajno niži nego u skupini ELAP. Na kraju istraživanog razdoblja indeks stimulacije bio je na razini početnih vrijednosti u objema skupinama.

### ***Fitohemaglutinin (PHA)***

Proliferacija limfocita (cpm) na PHA u skupini ELAP nije se značajno mijenjala u odnosu na početnu vrijednost sve do 21. dana, kad je nađena bitna smanjenost stope proliferacije. U skupini TURP nije bilo razlike u mjerenjima. U mjerenjima među skupinama uočava se relevantna razlika već u početnom mjerenju, ta se razlika gubi neposredno nakon zahvata, da bi opet bila značajna 1. i 6. dana nakon zahvata. Tri tjedna od zahvata rezultati se jednaki u objema skupinama (Grafikon 24).

Grafikon 25: Srednje vrijednosti proliferacije limfocita na PHA (cpm) prije i nakon zahvata u skupinama ELAP i TURP



Kada su u analizu uvršteni indeksi stimulacije (SI) uočeno je značajno sniženje u skupini ELAP 1., 6. i 21. dana nakon zahvata, dok u skupini TURP nije bilo značajne razlike u mjerenjima. Među skupinama, slično kao i mjereno cpm, nalazimo razliku već u početnom mjerenju, ali se relevantna razlika uočava u svim mjerenjima, usprkos padu vrijednosti u skupini ELAP (Tablica 8).

### **Laboratorijski pokazatelji i primijenjena snaga laserske energije**

Primijenjena energija laserskog zračenja u skupini ELAP iznosila je prosječno 21300 J (raspon, 14400-36000 J). Tu skupinu bolesnika podijelili smo u dvije podskupine. U prvu skupinu uvršteni su bolesnici s manjim adenomom, prosječnog volumena 23 ccm (raspon, 20-30 ccm), u kojih je primijenjena energija zračenja prosječno iznosila 14900 J (raspon, 14400-15300) (skupina "laseri 1"). U drugoj skupini su bili svi bolesnici s većim adenomom, prosječnog volumena 34 ccm (raspon, 30-45 ccm), u kojih je primijenjena energija laserskog zračenja prosječno iznosila 25300 J (raspon, 18000-36000) (skupina "laseri 2").

Usporedbom bolesnika iz obiju podskupina nakon endoskopske laserske ablacije prostate uočava se da ne postoji statistički značajna razlika u laboratorijskim pokazateljima tijekom praćenja, osim za nekoliko mjerenja, gdje su razlike utvrđene i prije samog zahvata (Tablica 9). To se odnosi na broj leukocita, neutrofila, monocita i B-limfocita u perifernoj krvi. Od ostalih pokazatelja koji nisu u vezi s početnim razlikama izdvajaju se samo stimulacijski indeksi proliferacije limfocita potaknute s pomoću ConA i PWM neposredno nakon zahvata (manji indeks stimulacije u skupini bolesnika liječenih većom dozom laserskog zračenja). Iz tih se rezultata može zaključiti da povećanje energije laserskog zračenja nema bitnijih utjecaja na promjenu imunoloških parametara kod bolesnika operiranih zbog adenoma prostate.

## R A S P R A V A

Svaka ozljeda, kirurški zahvat ili bilo koja druga trauma predstavljaju stresni događaj za organizam koji u odgovoru na "stresor" razvija složene lokalne i sustavne mehanizme prilagodbe (143-151). Lokalne promjene na mjestu oštećenja tkiva (npr. prilikom kirurškog zahvata) praćene su sustavnim neuroendokrinim i metaboličkim promjenama, kao i promjenama imunosnog sustava (152-154).

U ovom radu uspoređeni su sustavni učinci kirurške resekcije prostate (TURP) s učincima endoskopske laserske ablacije prostate (ELAP), zahvata koji predstavlja jednu od novijih metoda liječenja dobroćudnog uvećanja prostate. Težište istraživanje bilo je usmjereno na istraživanje imunoloških pokazatelja nakon primjene laserskog zračenja visoke energije na ljudski organizam. Jedan od motiva za istraživanje učinka laserskog zračenja na imunosti sustav jest i nedostatak relevantnih izvješća o toj temi u dostupnoj literaturi.

Važno je napomenuti da su obje vrste zahvata učinjena na taj način da se izbjegne sustavna reakcija na stres. Naime, u obje skupine bolesnika primijenjena je *spinalna anestezija*, tako da su izbjegnuti učinci opće anestezije na istraživane laboratorijske, a posebice imunološke pokazatelje.

U radu su istraženi klinički i laboratorijski pokazatelji periferne krvi bolesnika s adenomom prostate prije i nakon zahvata TURP, odnosno ELAP.

### **Klinički pokazatelji bolesnika s adenomom prostate prije zahvata**

Od osnovnih kliničkih pokazatelja istraženi su "*International Prostate Symptome Score*" (IPSS), kvaliteta života uz mokraćne tegobe (engl. *quality of life, QL*), prosječna vrijednost vršnog protoka urina (Q-max), volumen rezidualnog urina, te volumen prostate. Statističkom analizom nije nađena razlika u navedenim kliničkim pokazateljima između bolesnika koji su podvrgnuti zahvatu TURP od onih podvrgnutih zahvatu ELAP. To je važan podatak, jer bi razlike između ispitivanih skupina bolesnika prije zahvata mogle negativno utjecati na sveukupne rezultate postoperativnog praćenja bolesnika.

## **Laboratorijsko praćenje bolesnika s adenomom prostate nakon zahvata ELAP i TURP**

U laboratorijskom praćenju bolesnika prije i nakon zahvata ELAP i TURP određivani su ovi pokazatelji: hematološki (sedimentacija eritrocita, broj eritrocita, hematokrit i hemoglobin, broj trombocita, udio i broj leukocita, neutrofilnih leukocita, monocita i limfocita), biokemijski (urea, kreatinin, GUK, AST, ALT, GGT, ALP, CPK, ukupni proteini i proteinske frakcije u serumu), endokrinološki (serumska razina T3, T4, TSH, ACTH i kortizola) te imunološki. Od imunoloških pokazatelja periferne krvi istražena je razina imunoglobulina A, G i M, komponente komplementa C3 i C4, C-reaktivni protein, udio i broj limfocitnih subpopulacija (T, B i NK-stanice), a od funkcijskih testova istražena je proliferacija limfocita periferne krvi na mitogenike *in vitro*.

### **Hematološki pokazatelji**

Sedimentacija eritrocita (SE) je jednostavan, nespecifičan i relativno nedovoljno razjašnjen test. Ubrzanje SE predstavlja sustavnu pojavu u mnogim bolestima, uključujući ozljedu i stres. Ubrzanju brzine SE prilikom traume i ozljede pridonosi, između ostalog, i povećano stvaranje agregata zbog promjene u koncentraciji proteina akutne faze, prije svega serumskog fibrinogena. Nadalje, brzina SE ovisi o veličini, obliku i broju eritrocita te o drugim sastojcima plazme, ponajviše imunoglobulinima.

Dinamika promjene SE ne prati jednakom mjerom kliničko stanje (oporavak ili pogoršanje). U ovom je radu značajna razlika u brzini SE u odnosu na početne vrijednosti prije zahvata nađena u objema skupinama 6. i 21. postoperativnog dana. To je u skladu s činjenicom da se ubrzanje SE obično javlja nakon 48 sati od izlaganja traumi ili od pojave upale. Iako razlika među skupinama nije bila značajna, ipak je porast SE bio izraženiji u skupini TURP nego u skupini ELAP, što ukazuje da je sustavni odgovor slabije izražen u skupini bolesnika podvrgnutih zahvatu laserom. I drugi su autori ustanovili da je porast SE to izraženiji što je zahvat veći (276). Uspoređujući minimalno invazivne operacije (npr. laparoskopsku kolecistektomiju) s klasičnim zahvatom ("otvorenom" kolecistektomijom) nađen je izraženiji porast SE u "klasičnim» zahvatima", što upućuje na to da otvorena operacija, u pravilu, predstavlja veću traumu za organizam. Ta je činjenica u skladu s rezultatima ovog rada.



Tijekom zahvata TURP nije došlo do značajnijeg krvarenja, dok je zahvat ELAP učinjen bez gubitka krvi (tzv. "beskrvni zahvat"). Iako su nakon obaju zahvata nađene značajno niže vrijednosti broja eritrocita (E) u odnosu na početne vrijednosti, te razlike nisu bile od kliničkog značenja. Naime, broj eritrocita u objema skupinama bolesnika niti u jednom mjerenju nije bio  $<4,3 \times 10^{12}/L$ , vrijednost hemoglobina  $<126 \text{ g/L}$ , a vrijednost hematokrita  $<0,33 \text{ L/L}$ . Snižene vrijednosti broja eritrocita, hematokrita i hemoglobina neposredno nakon zahvata i 1. postoperativnog dana mogu se tumačiti učinkom hemodilucije zbog intravenske primjene infuzijskih otopina, a što je bilo neophodno zbog provedbe spinalne anestezije. Međutim, relevantne (iako ne i klinički značajne) razlike nađene su i 6. i 21. postoperativnog dana, što upućuje i na moguću drugu etiologiju sniženja crvene krvne slike. U literaturi postoji vrlo malen broj istraživanja o postoperativnoj anemiji, najvjerojatnije zbog stava da je ona u prvom redu uzrokovana gubitkom krvi tijekom i nakon operacije. No, postoje izvješća o postoperativnoj anemiji i bez značajnijeg gubitka krvi, pa se nameće zaključak da uzroci postoperativne anemije još nisu u potpunosti jasni (277). Postoje mišljenja da postoperativna anemija ima obilježja anemije kroničnih bolesti. Međutim, molekularni i stanični mehanizmi te vrste anemije slabo su poznati. Postoje dvije glavne teorije za nastanak anemije kronične bolesti. Prva postulira smanjeni odgovor organizma na eritropoetin, dok druga ("upalna") teorija postulira postojanje posrednika koji utječu na dinamiku recirkulacije željeza, izazivajući tzv. retikuloendotelijalni blok. Tim se blokom željezo zadržava u stanicama retikuloendotelijalnog sustava i ne odlazi na mjesto eritropoeze, tj. u koštanu srž (278). I u ovom je radu zasigurno utvrđeno da postoperativna anemija nije uzrokovana gubitkom krvi. Budući da su u obje skupine bolesnika nađene i promjene u razini reaktanata akutne faze, vjerojatno je ograničena upala bila glavnim uzrokom opažene postoperativne anemije. S druge strane, krvarenje (a posebice hemoragijski šok) uzrokuju promjene u općoj imunološkoj reaktivnosti organizma (185). Budući da u ovom radu nisu nađene klinički relevantne promjena u crvenoj krvnoj slici, trebalo je pretpostaviti da te promjene nisu mogle bitnije utjecati na imunološki sustav bolesnika nakon zahvata.

Osim lokalnog nakupljanja leukocita, svaku ozljedu prati i povećanje ukupnog broja leukocita u krvi. Iako porast leukocita u krvi nije glavni pokazatelj odgovora akutne faze, jer je odgovor akutne faze opisan i u bolesnika s agranulocitozom, ipak taj porast

upozorava na akutno upalno zbivanje. Između skupina ELAP i TURP nađena je značajna razlika u broju leukocita periferne krvi samo 1. postoperativnog dana, kad je broj leukocita u skupini TURP bio bitno veći nego u skupini ELAP. Time ukazujemo da zahvat TURP predstavlja veću i ozbiljniju traumu za organizam. Već 6. postoperativnog dana nije nađena značajna razlika u broju leukocita između skupina, što svjedoči da se nakon obaju zahvata bolesnici brzo oporavljaju. Zanimljivo je i kretanje broja leukocita unutar svake skupine: premda u objema skupinama broj leukocita pada neposredno nakon zahvata, taj je pad u skupini ELAP bio značajan i ne može se objasniti samo učinkom hemodilucije. Opaženi pad leukocita u perifernoj krvi u skupini ELAP mogao bi biti posljedicom brze redistribucije leukocita na mjesto termičke traume uzrokovane laserskom energijom. U prilog tome govori slična dinamika (tj. pad broja) neutrofilnih granulocita i limfocita nakon zahvata.

I drugi autori koji su uspoređivali različite vrste kirurških zahvata našli su promjene u broju leukocita nakon zahvata. Opisan je postoperativni porast broja leukocita nakon otvorene i laparoscopske kolecistektomije (279), a porast je bio izraženiji nakon otvorene operacije. U drugim radovima ta različita dinamika broja leukocita nije nađena (280-4). S obzirom na to da u literaturi nisu nađene usporedbe između laserskih operacija i drugih kirurških zahvata, to rezultati ovog rada ne mogu biti uspoređeni s iskustvima drugih autora.

Porast broja leukocita u perifernoj krvi tijekom i u prvim danima nakon zahvata/ozljede uglavnom se odnosi na porast granulocita. Fiziološko značenje granulocitoze jest u tome da zbog kratkog vijeka granulocita (poluživot oko 6 sati) organizam osigurava dovoljan broj upalnih stanica na mjestu ozljede (152). Te stanice imaju važnu ulogu u nespecifičnoj imunosnoj obrani, posebice fagocitozi i upalnoj reakciji, pa stoga čine jedan od ranih odgovora domaćina na zarazu ili ozljedu. Njihova je učinkovitost jedan od važnih pokazatelja predviđanja tijeka posttraumatskog oporavka, pri čemu je dob bolesnika izuzetno važan činitelj koji uvjetuje funkcionalnost granulocita. Zbog toga je u istraživanjima granulocitne funkcije od izuzetnog značenja podjednaka životna dob ispitanika. Svi bolesnici u ovom radu bili su stari između 60 i 70 godina, odnosno nije nađena razlika u životnoj dobi između tih dviju dobnih skupina ispitanika. U odnosu na početne (predoperativne) vrijednosti, broj neutrofila u objema skupinama bio je značajno

veći 1. postoperativnog dana, pri čemu su vrijednosti u skupini TURP bile bitno više u odnosu na skupinu ELAP. Slično kao i ukupan broj leukocita, u skupini ELAP opažen je značajan pad neutrofila neposredno po zahvatu, što se može objasniti njihovom bržom i opsežnijom redistribucijom na mjesto ozljede. Izraženo udjelom, značajan porast neutrofila u obje skupine nađen je neposredno nakon zahvata i 1. postoperativnog dana, što se djelomice može pripisati padu udjela limfocita i monocita u navedenim točkama mjerenja. Navedeni rezultati upućuju na to da oba zahvata predstavljaju traumu za organizam, ali je zahvat ELAP ipak manji traumatski događaj nego zahvat TURP. U literaturi se nalaze izvješća o granulocitozi nakon kirurških zahvata, koja je uvijek izraženija nakon ekstenzivnih zahvata (285). Na žalost, izvješća o učinku laserskog zračenja na broj granulocita ne postoje, pa se stoga ne mogu usporediti i dodatno komentirati rezultati ovog rada.

Analiza *broja* limfocita u perifernoj krvi bolesnika nakon zahvata ELAP i TURP nije pokazala značajne razlike između skupina niti u jednoj točki mjerenja. Međutim, u odnosu na početne vrijednosti, broj limfocita u objema skupinama smanjuje se neposredno nakon zahvata i 1. postoperativnog dana, ali je taj pad statistički značajan samo u skupini ELAP. To je u skladu s padom broja leukocita u objema skupinama u istim točkama mjerenja, a posebice u skupini ELAP, u kojoj se i broj neutrofila i broj limfocita smanjuje nakon zahvata. Pored vjerojatnog učinka hemodilucije (zbog primjene infuzijskih otopina) u obzir se mora uzeti i učinak redistribucije leukocita neposredno nakon ozljede. Broj limfocita u perifernoj krvi normalizirao se do 6. postoperativnog dana u objema skupinama. Analiza *udjela* limfocita među leukocitima periferne krvi pokazuje sniženje udjela limfocita nakon zahvata i normalizaciju 6. postoperativnog dana. Sniženje udjela limfocita nakon zahvata odraz je povećanja broja i udjela neutrofilnih granulocita i sniženja apsolutnog broja limfocita. Promjene broja i udjela limfocita nisu nađene niti u kasnijem postoperativnom tijeku (21. dan), što upozorava na to da oba zahvata (a to se posebice odnosi na potencijalno imunomodulacijsku metodu ELAP) ne uzrokuju promjene ni broja niti udjela limfocita u perifernoj krvi.

Broj i udio monocita u perifernoj krvi također je pokazao određene promjene nakon zahvata ELAP i TURP. U obje skupine nađen je pad broja i udjela monocita nakon zahvata, ali je on bio izraženiji u skupini ELAP. Pad broja i udjela monocita neporedno

nakon zahvata može se objasniti i učinkom hemodilucije, ali i vjerojatnom redistribucijom stanica nakon ozljede/traume. Prema kretanju broja i udjela monocita, izgleda da zahvat ELAP dovodi do dugotrajnijeg sniženja monocita u krvi nego zahvat TURP, jer se značajna razlika između skupina uočava neposredno nakon zahvata te 1. i 6. dana, a nestaje tek 21. postoperativnog dana.

### **Biokemijski pokazatelji**

Od analiziranih biokemijskih pokazatelja u objema skupinama nađena je statistički značajna razlika samo u vrijednostima enzima CK u odnosu na početne vrijednosti. CK je enzim koji katalizira reverzibilnu reakciju prijenosa fosfata između kreatin-fosfata i ADP, odnosno kreatina i ATP. Neposredno nakon zahvata i 1. postoperativnog dana vrijednosti CK bile su povišene u objema skupinama, dok razlika između skupina nije nađena. Međutim, porast CK bio je izraženiji u skupini ELAP nego u skupini TURP, što govori u prilog činjenice da zahvat ELAP uzrokuje opsežniju i dugotrajnu nekrozu tkiva. To je i razumljivo s obzirom da zahvat ELAP dovodi do koagulacijske nekroze koja se u dubinu tkiva proteže i do 8 mm unutar svakog režnja prostate. S vremenom se nekrotično tkivo "otplavljuje" iz organizma, a cjelokupni proces traje oko tri mjeseca. Nasuprot tome, prilikom zahvata TURP, resecirani dijelovi prostate se tijekom i neposredno nakon zahvata vade iz «organizma» (mokraćnog mjehura i prostatične lože), nakon čega ostaje nekrotična površina na kapsuli prostate gdje dubina nekroze ne prelazi 2 mm.

Ostali biokemijski pokazatelji istraživani u ovom radu nisu pokazali razlike u prijeoperativnim i poslijeoperacijskim vrijednostima unutar skupine, niti su razlike nađene između ispitivanih skupina bolesnika. S obzirom na to da nisu nađene promjene u vrijednostima AST, ALT, GGT, bilirubina i alkalne fosfataze, može se zaključiti da niti jedan od zahvata nema utjecaja na funkciju jetre. Slično, nije nađena razlika u vrijednostima kreatinina, ureje i GUK-a, što govori za normalnu funkciju bubrega, odnosno urednu regulaciju šećera u krvi tijekom i nakon obaju zahvata.

Promjene koncentracije **proteina** u serumu nalaze se u različitim patološkim stanjima, kao što su npr. ozljede (posebice opekotine) te akutne i kronične upale. Uspoređujući skupine TURP i ELAP nije nađena bitna razlika u razini serumskih proteina niti u jednoj točki mjerenja. Međutim, u objema skupinama nađena je vjerodostojna razlika u razini ispitivanih proteina u odnosu na početne vrijednosti prije zahvata. Najveće sniženje

razine ukupnih proteina izmjereno je neposredno nakon zahvata i 1. postoperativnog dana u objema skupinama, što se može pripisati učinku hemodilucije, ali i gubitku proteina na mjestu traume. Pri tome je sniženje razine serumskih proteina bilo nešto izraženije u skupini TURP, što upozorava na veći «kirurški stres». Međutim, kako tijekom zahvata TURP dolazi do reapsorpsije hipotonične otopine, ta pojava može potencirati hemodiluciju i dijelom uzrokovati sniženje vrijednosti ukupnih proteina u serumu. Nakon tri tjedna od zahvata sniženje serumskih proteina nađeno je samo u skupini ELAP. Budući da "ispiranje" nekrotičnog tkiva pri primjeni lasera traje i do tri mjeseca, ta bi činjenica mogla biti uzrokom lokalnog nakupljanja proteina na mjestu ozljede, odnosno operacije. I u radovima drugih autora koji su mjerili promjene koncentracije proteina nakon kirurških zahvata nađeno je postoperativno sniženje razine proteina serumu (280). Kako je albumin glavni sastojak serumskih proteina, bila je očekivana slična dinamika albumina nakon zahvata, što se i potvrdilo u ovom radu. Albumin je «negativni reaktant» akutne faze čija je sinteza u odgovoru akutne faze snižena, pa sniženje razine albumina nakon obaju zahvata upućuje na podjednako izražen «stresni» događaj za organizam. Ta su opažanja u skladu s rezultatima drugih autora koji nalaze postoperativno sniženje razine albumina nakon klasične i laparoscopske kolecistektomije (286). Slični rezultati dobiveni su i za ostale proteinske frakcije. Budući da oba zahvata predstavljaju traumatski događaj za organizam, očekivao bi se porast alfa<sub>1</sub> i alfa<sub>2</sub>-globulina, unutar kojih se nalaze frakcije proteina akutne faze. Premda je opažen blagi porast razine navedenih frakcija od 6. postoperativnog dana, razlika nije bila statistički značajna. Navedeni rezultati upozoravaju na to da oba zahvata dovode do relativno slabog upalnog sustavnog odgovora.

### **Endokrinološki pokazatelji**

U radu su analizirane serumske razine hormona T3, T4, TSH, ACTH i kortizola.

Serumska razina T3 snižena je neposredno nakon obaju zahvata, dok vrijednosti 1. postoperativnog dana pokazuju različiti smjer: u skupini ELAP nađen je porast (iznad razine prije zahvata), a u skupini TURP daljnji pad vrijednosti T3 (znajajna razlika između skupina). Šestog i 21. postoperativnog dana razine T3 bile su unutar granica početnih vrijednosti. Vrijednosti T4 nisu se razlikovale između skupina, ali je u objema skupinama nađen prolazan pad razine neposredno nakon zahvata (pri čemu su vrijednosti

bile unutar raspona normala za T4). Niti za vrijednosti TSH nisu nađene razlike između skupina niti u jednoj točki mjerenja, uz prolazan pad razine TSH neposredno po zahvatu u objema skupinama. Čini se da sniženje razine navedenih hormona neposredno po zahvatu treba pripisati hemodiluciji. Uspoređujući te rezultate s rezultatima Prescottta i sur. (163) dobivene na modelu elektivne kolecistektomije, nađene su sličnosti i razlike, što se može pripisati činjenici da je u Prescotttovoj studiji primijenjena opća anestezija. Isti autor opisuje porast razine T4, sniženje razine T3, dok je razina TSH bila nepromijenjena.

Vrijednosti hormona ACTH i kortizola, kao hormona "stresa", nisu se bitno razlikovale između skupina niti u jednoj točki mjerenja. Analiza serumske razine ACTH pokazuje prolazno povećanje razine neposredno nakon obaju zahvata, nakon čega dolazi do pada vrijednosti 1. postoperativnog dana. Ipak, značajna razlika nađena je samo za porast ACTH neposredno nakon zahvata TURP, dok u skupini ELAP niti jedna razlika nije bila statistički relevantna. Vrijednosti kortizola u serumu pratile su vrijednosti ACTH samo u skupini TURP (porast nakon zahvata i sniženje razine 1. postoperativnog dana), dok su u skupini ELAP nađene bitno niže razine kortizola u svim točkama mjerenja u odnosu na početne vrijednosti. Povećanje razine ACTH i kortizola nakon ozljede, odnosno operacije poznata je patofiziološka pojava (177-178, 287). Međutim, postoje izvješća o zahvatima (npr. elektivnoj kolecistektomiji) u kojima nije uočen postoperativni porast kortizola (288-9). U ovom radu nađen je značajan porast navedenih hormona samo u skupini TURP, dok je u skupini ELAP povećanje razine ACTH bilo beznačajno, sa značajno nižom razinom kortizola. Ti rezultati upozoravaju na to da u skupini ELAP izlučivanje kortizola nije bilo pod kontrolom ACTH, odnosno da zahvat ELAP, kao minimalno invazivni zahvat, ne predstavlja značajniji stres za organizam. Treba napomenuti da su oba zahvata izvođena u spinalnoj anesteziji, postupku u kojem (barem prema nekim izvješćima) izostaje hormonalni "stresni" odgovor (171-173). Ovo opažanje potvrđuju rezultati skupine ELAP, ali ne i rezultati skupine TURP, što ponovno upozorava na to da zahvat TURP uzrokuje znatno veći stres za organizam.

### **Imunosni pokazatelji**

Jedan od glavnih ciljeva ovog rada bio je istražiti utjecaj zahvata ELAP i TURP na imunosni sustav. Razlog za to bio je relativno velik nerazmjer između zanimanja za

učinke laserske energije na imunostni sustav i broja objavljenih znanstvenih radova na tu temu. Drugim riječima, mnogo se nagađa o potencijalnim učincima laserske energije, dok su podaci eksperimentalnih i kliničkih studija malobrojni (268-275).

### ***Sastavnice nespecifične obrane***

O promjenama leukocita i monocita kao glavnih stanica nespecifične imunosti bilo je riječi u prethodnim odjeljcima (hematološki pokazatelji). Iako i NK-stanice pripadaju nespecifičnoj imunosti, one će se (radi preglednosti teksta i rezultata) obraditi zajedno s ostalim limfocitima periferne krvi. Od humoralnih sastavnica nespecifične imunosti posebno treba istaknuti sustav komplementa i CRP.

Od sustava **komplementa** u ovom su radu analizirane serumske razine dviju komponenti – C3 i C4. Osim blagog sniženja neposredno po zahvatu, ELAP nije doveo do vjerodostojnih promjena razine C3 niti u jednoj točki mjerenja nakon zahvata. Zahvat TURP inducirao je vjerodostojno sniženje C3 neposredno po zahvatu i 1. postoperativnog dana, ali i značajan porast 6. postoperativnog dana. Najvjerojatniji uzroci sniženja C3 nakon obaju zahvata bili su hemodilucija (jače izražena u skupini TURP) i vjerojatno "trošenje" komplementa (razvoj lokalne upale). Međutim, bitna razlika između skupina ELAP i TURP nije nađena niti u jednoj točki mjerenja. I vrijednosti C4 u objema skupinama najprije opadaju neposredno nakon zahvata (vjerojatno) zbog hemodilucije, dok je 1. postoperativnog dana razina C4 značajno niža u skupini TURP nego u skupini ELAP. I taj se rezultat može objasniti jače izraženom hemodilucijom i jačim upalnim procesom u bolesnika skupine TURP. Kao i u slučaju C3, i razina C4 u skupini TURP značajno raste 6. postoperativnog, što bi se moglo objasniti (pored prestanka učinka hemodilucije) jače izraženom upalnom reakcijom koja inducira sintezu C3 i C4 u skupini TURP. U dostupnoj literaturi nađen je podatak da nema promjena razine C3 nakon operacije krajnika s pomoću lasera Nd:YAG (273). Ta činjenica je u potpunom skladu s opažanjima u ovom radu.

CRP je glavni reaktant akutne faze, a njegove postoperativne razine rastu već nakon četiri sata od zahvata. Povišene vrijednosti CRP u serumu mogu se naći i do dva tjedna nakon zahvata (290). Vrijednosti CRP veće su što je veći «kirurški stres», pa se značajno manji porast razine CRP nalazi nakon laparoskopskih u odnosu na otvorene kirurške zahvate (291). Drugi autori izvješćuju da nema razlike u razini CRP između otvorenih

(agresivnijih) i manje stresnih zahvata (292). U ovom radu zahvat TURP inducirao je sniženje ("trošenje") C3-komponente komplementa te značajno povećanje razine CRP u serumu 1. i 6. postoperativnog dana, dok se slične promjene nisu opazile u bolesnika skupine ELAP. Ta činjenica upozorava na to da zahvat TURP predstavlja jaču traumu, odnosno da u odgovoru na kiruršku traumu organizam reagira izraženom upalnom reakcijom. Međutim, porast razine CRP nakon zahvata TURP nije imao posebno kliničko značenje, budući da su vrijednosti CRP rijetko prelazile razinu 20 mg/L. Najviša razina CRP nakon zahvata TURP iznosila je 24 mg/L (1. postoperativnog dana), s prosječnom vrijednosti 12,5 mg/L. Taj podatak govori u prilog blaže upalne reakcije nakon zahvata TURP.

### ***Sastavnice specifične imunosti***

#### ***a) Humoralna imunost***

Od pokazatelja **humoralnog** imunosnog odgovora ispitani su broj i udio CD19+ limfocita B u perifernoj krvi i koncentracije imunoglobulina u serumu. Apsolutni broj i udio limfocita B u krvi nije se mijenjao nakon zahvata ELAP i TURP, pa stoga nije bilo ni razlike između ispitivanih skupina bolesnika. Ta činjenica upućuje na to da niti jedan od primijenjenih zahvata ne uzrokuje promjene u nositeljima humoralnog imuniteta, odnosno da ne uzrokuju značajniju traumu za organizam. Razine IgG, IgA i IgM nisu pokazale razlike između skupina ELAP i TURP, a razlike nije bilo niti u razini IgA i IgM u odnosu na preoperativne vrijednosti. Nasuprot tome, razina IgG bila je bitno snižena u objema skupinama nakon zahvata i prati trend vrijednosti gama globulina. Objašnjenje za tu pojavu jesu hemodilucija i nakupljanja IgG na mjestu ozljede odnosno operacije.

O promjenama humoralne imunosti uzrokovane ozljedom, uključujući i elektivne kirurške zahvate, u literaturi se mogu naći različiti podaci. Općenito, rezultati ovise o vrsti i težini ozljede, vrsti ispitivanih pokazatelja imunosnog statusa te o vremenu njihova određivanja nakon ozljede (150,209-214). Teške ozljede praćene jakim krvarenjem, a posebice opekotine, obilježava sniženje razine imunoglobulina u serumu (150,209-210). Kako su ti bolesnici zbog gubitka krvi izloženi nadoknadi krvnog volumena kristaloidima, zamjenama za plazmu i krvnim derivatima, teško je interpretirati dobivene rezultate budući da sniženje razine imunoglobulina može biti izravnom posljedicom dilucije krvi (150). Nadalje, uspoređujući *de novo* sintezu i sekreciju imunoglobulina od



strane limfocita periferne krvi *in vitro*, značajno sniženje sinteze imunoglobulina nađeno je samo u traumatiziranih bolesnika, dok slične promjene nisu nađene u bolesnika podvrgnutih elektivnom operativnom zahvatu (214). Prilikom tonzilokoagulacije s pomoću lasera Nd:YAG nije nađena promjena u razini serumskih imunoglobulina nakon zahvata (273). U bolesnika s želučanim vrijedom koji su bili liječeni visokointezivnim impulsnim laserskim zračenjem nađen je smanjen broj limfocita B, kao i snižene razine IgA i IgG uz nepromijenjenu razinu IgM (274). Taj podatak upućuje na to da lasersko zračenje *jakog* inteziteta može imati imunosupresijsko djelovanje na humoralnu sastavnicu imunosnog sustava.

#### ***b) Stanična imunost***

Od sastavnica stanične imunosti periferne krvi istražen je apsolutni broj i udio limfocita T i njihovih subpopulacija, udio i broj NK-stanica, udio i broj aktiviranih limfocita T, te proliferacija limfocita na podražaj mitogenicima *in vitro*.

#### ***Limfociti T***

Udjeli CD3+ limfocita T u perifernoj krvi nakon zahvata ELAP i TURP ne pokazuju promjene u odnosu na početne vrijednosti, a razlika nije nađena niti za udjele limfocita T između skupina ELAP i TURP. Međutim, izraženo u *apsolutnim brojevima*, nađeno je vjerodostojno sniženje broja limfocita T nakon obaju zahvata, a to je posljedica sniženja ukupnog broja limfocita nakon obaju zahvata.

#### ***Subpopulacije limfocita T***

U odnosu na subpopulacije limfocita T, rezultati su analizirani posebno za subpopulacije CD4+ i CD8+, a posebno za subpopulacije definirane biljezima CD3+CD4+, odnosno CD3+CD8+. Ta distinkcija ima smisla, jer je biljeg CD8 izražen i na dijelu NK-stanica, pa bi se u analizu CD8+ limfocita, u zapravo, uvrstile i NK-stanice. Slično, biljeg CD4+ izražen je i na stanicama monocitne loze koje se u analizi mogu pogrešno uvrstiti u CD4+ limfocite (posebice se to odnosi na malene monocite, mikromonocite).

#### ***CD4+ stanice***

Glede udjela CD4+ stanica, oba zahvata dovela su do porasta udjela CD4+ stanica u perifernoj krvi neposredno nakon zahvata, ali je ta razlika bila značajna samo za zahvat ELAP. Izraženo apsolutnim brojem, u objema skupinama nađen je pad *broja* CD4+ stanica, što je posljedicom pada broja limfocita nakon zahvata. Za razliku od CD4+

stanica, udio CD8+ stanica značajno je bio snižen neposredno nakon obaju zahvata, što se odrazilo i u sniženom apsolutnom broju nakon obaju zahvata. Zanimljiv je nalaz da CD16+ stanice, među kojima se nalaze NK-stanice i dio T-limfocita, nisu pokazale veća odstupanja postotka nakon zahvata u objema skupinama.

Sve opisane nalaze možemo, dakle, protumačiti na ovaj način: neposredno nakon zahvata ne dolazi do promjena udjela T-limfocita, jer su promjene T-subpopulacija kompenzirane (CD4+ raste, CD8+ pada, CD16+ bez promjena). Međutim, zbog pada apsolutnog broja limfocita, pada i apsolutni broj CD4+ i CD8+ stanica u objema skupinama, uprkos porastu udjela CD4+.

#### *Pomagački, citotoksični i NK-limfociti*

U daljnjoj analizi uvrštene su vrijednosti pomagačkih (CD3+CD4+), citotoksičnih (CD3+CD8+) i NK-stanica (CD3-CD16+56+).

Trend postoperativnog povećanja *udjela* i *broja* pomagačkih limfocita nađen je samo u skupini ELAP, dok je u skupini TURP *udio* pomagačkih limfocita bio nepromijenjen, a apsolutni *broj* čak i smanjen neposredno nakon zahvata. Nasuprot tome, u objema skupinama nađen je pad i *broja* i *udjela* citotoksičnih limfocita T neposredno nakon zahvata, kao i sniženje i *udjela* i *broja* NK-stanica nakon zahvata i 1. postoperativnog dana. Navedeni rezultati govore u prilog različite dinamike subpopulacija limfocita T i NK-stanica neposredno nakon zahvata (traume). Naime, u bolesnika skupine ELAP dolazi do neznačajnog porasta broja pomagačkih, te do značajnog pada broja citotoksičnih limfocita i NK-stanica. Nakon zahvata TURP dolazi do pada broja svih triju subpopulacija neposredno nakon zahvata. Apsolutni brojevi pomagačkih i citotoksičnih limfocita T normaliziraju se u objema skupinama već 1. postoperativnog dana, za razliku od broja NK-stanica koji se normalizira do 6. postoperativnog dana. Navedeni rezultati govore u prilog relativno brze redistribucije subpopulacija limfocita T iz cirkulacije na mjesto ozljede. U prilog tome govori činjenica da se NK-stanice pojavljuju vrlo rano na mjestu ozljede/upale, gdje sudjeluju u inicijaciji obrambenog i upalnog odgovora. Međutim, i u nekim eksperimentalnim animalnim modelima pokazano je da oštećenje tkiva (npr. aksona u CNS-u) prati akumulacija limfocita T, odnosno da sustavna infuzija aktiviranih limfocita T nakon ozljede CNS-a dovodi do povećanog broja limfocita T na mjestu ozljede, bez obzira na njihovu antigensku specifičnost (293). Većina

novopridošlih limfocita odumire apoptozom, dok samo antigen-specifične stanice preživljavaju.

### ***Omjer CD4/CD8***

Omjer između pomagačkih i citotoksičnih T-limfocita jedan je od važnih pokazatelja staničnog imunskog statusa, a normalni raspon iznosi od 1 do 3 (294). Izražen kao omjer između svih CD4+ i CD8+ stanica periferne krvi nije nađena statistički vjerodostojna razlika između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja. Unutar svake skupine, međutim, opaženo je povećanje omjera u odnosu na početne vrijednosti nakon zahvata, ali je statistički značajno povećanje omjera CD4/CD8 nađeno samo 1. i 6. dana nakon zahvata ELAP. Kad je omjer između pomagačkih i citotoksičnih T-limfocita izražen kao omjer CD3+CD4+ i CD3+CD8+, ni tada nije nađena statistički vjerodostojna razlika između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja. Međutim, omjer CD4/CD8 pokazao je vjerodostojni porast unutar obje skupine neposredno nakon zahvata, značajnije u skupini ELAP.

O utjecaju elektivnog kirurškog zahvata i/ili laserskog zračenja na udio i broj limfocita periferne krvi nalaze se prilično heterogeni literaturni navodi. Drugim riječima, određivanje broja i subpopulacija limfocita T izvorom je proturječnih opažanja (145,215-218). Većina istraživača nalazi nepromijenjen ili smanjen broj limfocita T, odnosno CD3+ stanica periferne krvi (145,215-220), dok relativni udjeli limfocita s biljezima CD4+, odnosno CD8+ nisu uvijek jednoznačni. U odnosu na CD4+ limfocite T, njihov *udio* bio je nepromijenjen ili snižen u odnosu na preoperativne vrijednosti U odnosu na citotoksične limfocite, opisan je i porast udjela tih stanica, ali i nepromijenjene vrijednosti udjela u odnosu na vrijednosti prije zahvata. (45,215-18). Rezultati imunofenotipske analize limfocita umnogome ovise o nekoliko činitelja, od kojih treba istaknuti težinu i vrst ozljede, način zbrinjavanja ozljede (npr. u općoj ili spinalnoj anesteziji) i načinu (tehnic) izvođenja imunofenotipske analize (217). Na primjer, u bolesnika podvrgnutih klasičnoj elektivnoj kolecistektomiji, tehnika jednostrukog bojenja stanica i imunoflorescentne mikroskopije pokazala je snižen omjer CD4/CD8 kao isključivu posljedicu povećanja udjela citotoksičnih limfocita (145). Rezultati dobiveni protočnom citometrijom na sličnom modelu (mehaničke-kirurške i opekline ozljede) pokazali su snižene udjele obiju staničnih subpopulacija, uz snižen omjer CD4/CD8

(145,215-8). Prilikom liječenja bolesnika sa želučanim vrijedom s pomoću visokointenzivnog laserskog zračenja nađen je povećan broj limfocita T. Pri tome je bio značajno povišen broj pomagačkih (CD4+) uz sniženje broja citotoksičnih (CD8+) limfocita. Gotovo identični rezultati dobiveni su i u ovom radu. U odnosu na NK-stanice, većina autora nalazi znatno sniženu postoperativnu NK-aktivnost (202-7). Taj je nalaz u skladu s opisanim padom udjela i broja NK-stanica u perifernoj krvi nakon obaju zahvata. Međutim, neki su autori opisali i kratkotrajno prolazno pojačanje aktivnosti ovih stanica tijekom zahvata, nakon čega je uslijedila supresija njihove aktivnosti (206-7). Osterlynek i sur. našli su smanjenu aktivnost NK-stanica u bolesnica s endometriozom, koja se nije poboljšala nakon ekscizije s pomoću CO<sub>2</sub>-lasera (272). U ovom radu analiziran je samo broj i udio, a ne i aktivnost NK-stanica, pa stoga se ne može zaključiti je li lasersko zračenje ima ulogu i na samu razinu NK-aktivnosti.

Premda se udjeli limfocita T s biljgom ranog aktiviranja (CD3+CD25+ stanice) nisu bitno razlikovali između skupina ELAP i TURP niti u jednoj točki mjerenja, nađena je različita dinamika tih stanica u perifernoj krvi nakon zahvata ELAP, odnosno TURP. *Udio* limfocita T s odlikom aktiviranog imunofenotipa povećava se nakon obaju zahvata, s tom razlikom da je taj porast značajan samo u skupini TURP (1. i 6. postoperativni dan). Glede apsolutnog *broja* tih stanica u perifernoj krvi, bitno povećanje nađeno je samo u skupini TURP neposredno nakon zahvata te 1. i 6. postoperativnog dana. Ti nalazi upozoravaju na to da oba zahvata, a posebice TURP, dovode do povećanja udjela limfocita T aktiviranog fenotipa. Za razliku od biljega rane aktivacije, limfociti s biljgom kasne aktivacije (CD3+HLA-DR+) ne pokazuju porast, već blago sniženje nakon obaju zahvata, značajno samo neposredno nakon zahvata ELAP. To govori u prilog vrlo rane redistribucije tih stanica iz periferne krvi u tkivo nakon elektivnog kirurškog zahvata.

#### ***Proliferacija limfocita in vitro nakon zahvata ELAP i TURP***

Za procjenu funkcije limfocita T i B upotrebljen je test proliferacije limfocita na mitogenike *in vitro*. Istražen je odgovor limfocita na fitohemaglutinin (PHA), konkavalin A (ConA) i korovksi mitogen PWM (prema engl. *pokeweed-mitogen*).

Reaktivnost na PHA (izraženo u cpm) razlikovala se između skupina već na startu, pa je vrlo teško donositi valjane zaključke o dinamici aktiviranja limfocita na PHA *in vitro*

nakon obaju zahvata. Jedan od razloga za tu pojavu jest vrlo velik raspon i varijabilnost reaktivnosti na mitogene u normalnoj populaciji. Analizom vrijednosti proliferacije na PHA zasebno, tj. unutar svake skupine, nije nađena značajnija promjena u PHA-reaktivnosti nakon obaju zahvata, osim značajnog sniženja odgovora na PHA u skupini ELAP 21. postoperativnog dana. Ako se stupanj proliferacije stanica izrazi u indeksu stimulacije (SI), obje skupine se također razlikuju već na startu. Analizirajući SI unutar svake skupine, uočava se težnja sniženja SI nakon obaju zahvata, što se može pripisati povećanoj spontanoj proliferativnoj aktivnosti limfocita nakon obaju zahvata, posebice u skupini ELAP. Za razliku od PHA, reaktivnost na Con-A (cpm) pokazala je prolazno sniženje nakon zahvata TURP, s naknadnim porastom stope proliferacije 1. i 21. postoperativnog dana. U zahvatu ELAP nije opaženo prolazno sniženje reaktivnosti neposredno nakon zahvata, već kontinuirani porast reaktivnosti 1. i 21. postoperativnog dana. Vjerodostojna razlika u reaktivnosti na Con-A između skupina (TURP>ELAP) nađena je samo 21. postoperativnog dana. Izraženo u indeksu stimulacije, pad reaktivnosti na Con-A nakon zahvata doveo je do sniženja SI u skupini TURP, iako ne vjerodostojnog. Slično kao i za PHA, SI nije rastao s povećanom stopom proliferacije stanica na Con-A, što upozorava na to da oba zahvata dovode do povećanja spontane proliferacije limfocita. Reaktivnost limfocita na PWM pokazuje sličnu težnju kao i reaktivnost na Con-A: sniženje reaktivnosti neposredno nakon zahvata TURP i izrazito povećanje 21. postoperativnog dana, dok ELAP dovodi do kontinuiranog povećanja PWM-reaktivnosti do 6. postoperativnog dana, kad su reaktivnosti obaju skupina vjerodostojno različite.

U zaključku se može istaknuti slijedeće:

1. reaktivnost na PHA nije se značajno mijenjala nakon zahvata TURP, dok se nakon zahvata ELAP uočio kasni (21. dan) pad reaktivnosti;
2. stimulacijski indeks (SI) za PHA u obje skupine smanjuje se nakon obaju zahvata, što je neposredni rezultat povećanja spontane proliferativne sposobnosti limfocita;
3. proliferativna aktivnost (cpm) limfocita na Con-A i PWM pokazuje sličan trend koji je ovisan o vrsti zahvata: TURP dovodi do sniženja proliferacije limfocita neposredno nakon zahvata, s relativno kasnim povećanjem stope proliferacije 21. dana. Nasuprot

tome, ELAP dovodi do kontinuiranog povećanja reaktivnosti na PWM i Con-A u svim točkama nakon zahvata;

4. stimulacijski indeks (SI) također je ovisio o vrsti zahvata: snižen SI (zbog povećanja spontane proliferacije) za PWM nađen je nakon zahvata ELAP 1. i 6. postoperativnog dana, a nakon zahvata TURP 1. postoperativnog dana. SI za ConA također je bio snižen nakon obaju zahvata, ali statistička značajnost razlika nije dosegnuta.

Navedeni rezultati govore da niti jedan zahvat ne uzrokuje značajnije promjene u reaktivnosti limfocita na PHA (osim smanjene reaktivnosti u skupini ELAP 21. dana od zahvata), dok se reaktivnost na Con-A i PWM bitno razlikuje između skupina. Pri tome ELAP je "poštedniji" nego TURP, koji dovodi najprije do inhibicije, a potom i pretjerane aktivacije limfocita 21. postoperativnog dana.

U literaturi postoje različiti podaci u smislu odgovora limfocita na mitogenike nakon ozljede ili opekline: od postoperativnog sniženja odgovara na PHA (koju opisuje većina autora), do pojačanog mitogenog odgovora nakon teške opekline (221-226). Navedeni proliferacijski odgovori mogu se tumačiti i izrazitom varijacijom odgovora na PHA u normalnoj populaciji (227-8), posebice ako istraživanje nije longitudinalno, tj. ne prati istu skupinu bolesnika tijekom faza liječenja i oporavka. Štoviše, *in vitro* testovi ne mogu biti siguran pokazatelj potencijalnog oštećenja imunskog sustava zbog složene funkcionalne interakcije velikog broja različitih stanica *in vivo* (229).

#### ***Razlike u biološkim učincima lasera visoke i niske energije***

Jedan od ciljeva ovog istraživanja bio je i utvrditi mijenjaju li se postoperativni hematološki, biokemijski, endokrinološki i imunološki pokazatelji s povećanjem doze laserske energije. Primijenjena energija u skupini bolesnika operiranih laserom iznosila je prosječno 21300 J (raspon 14400-36000 J). Ta je skupina podijeljena u dvije podskupine: u prvoj skupini (ELAP 1) bili su bolesnici koji su primili energiju zračenja 14900 J (raspon 14400-15300 J), dok je druga skupina bolesnika (ELAP 2) primila prosječnu energiju 25300 J (18000 - 36000 J). Usporedba rezultata skupina ELAP 1 i ELAP 2 ne otkriva značajne razlike u analiziranim imunskim pokazateljima. Stoga se nameće zaključak da povećanje energije laserskog zračenja nema bitnijeg utjecaja na postoperativne hematološke biokemijske, endokrinološke i imunološke pokazatelje u bolesnika s dobroćudnim uvećanjem prostate koji su bili liječeni laserskim zračenjem.

## ZAKLJUČCI

U ovom istraživanju uspoređeni su sustavni upalni, hematološki, endokrinološki, biokemijski i imunološki učinci transuretralne elektroresekcije prostate (TURP) s učincima endoskopske laserske ablacije prostate (ELAP) u bolesnika s adenomom prostate. Težište istraživanje postavljeno je na istraživanje nespecifičnih i specifičnih imunoloških parametara nakon primjene lasera visoke energije na ljudski organizam (ELAP). Jedan od razloga za istraživanje učinaka lasera visoke energije na čovjekov imunosti sustav bio je i potpuni nedostatak relevantnih izvješća o toj problematici u dostupnoj domaćoj i međunarodnoj literaturi.

Na temelju dobivenih rezultata mogu se izvesti ovi zaključci:

1. oba zahvata dovode do lokalnog oštećenja tkiva i sustavnog odgovora organizma na ozljedu, što se očituje upalnim, biokemijskim, endokrinološkim, hematološkim i imunostim pokazateljima u perifernoj krvi operiranih bolesnika;
2. u odgovoru *akutne faze*, samo zahvat TURP dovodi do značajnog, ali prolaznog povećanja razine CRP u serumu nakon zahvata, dok se ubrzanje sedimentacije eritrocita u objema skupinama opaža tek u kasnijem postoperativnom periodu;
3. nakon obaju zahvata dolazi do sniženja vrijednosti hemoglobina i hematokrita, što je bilo jače izraženo u bolesnika podvrgnutih zahvatu TURP. Ta činjenica upućuje na to da je TURP, kao kirurška metoda, agresivnija od zahvata ELAP;
4. u odnosu na *leukocite* periferne krvi, oba zahvata dovode do inicijalnog pada broja leukocita neposredno nakon zahvata (značajno u skupini ELAP), te porasta broja leukocita 1. postoperativnog dana (značajno u skupini TURP). Vrijednosti leukocita u perifernoj krvi vratile su se na prijeoperativne vrijednosti 6. dana od obaju zahvata;
5. u odnosu na *diferencijalnu krvnu sliku*, nakon oba zahvata postoji težnja povećanja udjela neutrofila i pada udjela monocita i limfocita. Međutim, zbog razlike u kretanju leukocita, zahvat ELAP karakterizira najprije značajan pad, a onda i porast broja neutrofila 1. postoperativnog dana, dok je u skupini TURP broj neutrofila povećan u objema točkama nakon zahvata. Broj monocita značajno je snižen neposredno nakon zahvata ELAP, dok zahvat TURP dovodi (slično neutrofilima) do povećanja broja

monocita 1. postoperativnog dana. Zbog većeg sniženja leukocita, i broj limfocita u krvi značajno je smanjen nakon zahvata i 1. postoperativnog dana samo u skupini ELAP. Sve vrijednosti leukocita i leukocitnih populacija vraćaju se na normalu 6. postoperativnog dana;

6. u odnosu na **biokemijske** parametre krvi, ni ELAP niti TURP nisu imali značajne učinke na vrijednosti glukoze, kreatinina, ureje, jetrenih enzima (ALT, AST,  $\gamma$ -GT) i alkalne fosfataze. Nasuprot tome, oba zahvata dovela su do značajnog porasta CPK neposredno po zahvatu, odnosno 1. postoperativnog dana, što govori za lokalno oštećenje tkiva;
7. ukupna razina, kao i većina frakcija serumskih **proteina** (albumina,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -globulina) značajno je snižena neposredno nakon obaju zahvata i 1. postoperativnog dana, a vraćaju se na normalne vrijednosti 6. postoperativnog dana; iznimka su  $\alpha_1$ -globulini koji ne pokazuju promjene u serumskoj koncentraciji niti u jednoj od točaka mjerenja nakon oba zahvata;
8. **endokrini** učinci zahvata TURP i ELAP očitovali su se inicijalnim porastom hormona ACTH u serumu, što je bilo značajno samo u skupini TURP, uz normalizaciju vrijednosti u 1. postoperativnom danu. Ta dinamika, međutim, nije bilo praćena istovremenim promjenama u serumskoj razini kortizola, čije su vrijednosti bile značajno snižene samo nakon zahvata ELAP i to 1., 6. i 21. postoperativnog dana. Nasuprot tome, oba zahvata dovela su do početnog sniženja serumske razine T3, nakon čega se razina T3 povećava (ELAP), odnosno smanjuje (TURP) 1. postoperativnog dana;
9. u odnosu na **humoralni** krak imunskog sustava, ni TURP niti ELAP nisu doveli do značajne promjene u relativnom i apsolutnom broju CD19+ limfocita B u perifernoj krvi, niti u serumskim razinama IgA i IgM. Međutim, oba zahvata dovode do sniženja razina IgG u serumu 1. i 6. postoperativnog dana, s normalizacijom nalaza do 21. dana od zahvata. I ELAP i TURP dovode do značajnog sniženja serumske razine C3 i C4 neposredno nakon zahvata, a taj se učinak u skupini TURP opaža i 6. postoperativnog dana;
10. u odnosu na **celularni** krak imunskog sustava, ni ELAP niti TURP ne dovode do promjena u relativnim udjelima CD3+ limfocita T u perifernoj krvi, ali se zbog pada



apsolutnog broja limfocita opaža i značajan, ali prolazan pad apsolutnog broja limfocita T neposredno nakon obaju zahvata;

11. u odnosu na pomagačke limfocite T (CD4+, odnosno CD3+CD4+) njihov se udio nakon zahvata povećava (ELAP) ili ostaje nepromijenjen (TURP), dok apsolutni broj pomagačkih CD3+CD4+ limfocita T ostaje nepromijenjen (ELAP) ili je prolazno snižen neposredno nakon zahvata TURP;
12. suprotno nalazu za pomagačke limfocite, oba zahvata dovode do značajnog sniženja i relativnog i apsolutnog broja citotoksičnih limfocita T neposredno nakon zahvata i NK-stanica neposredno nakon zahvata i 1. postoperativnog dana. Shodno tome postoji značajno povećanje omjera CD4/CD8, posebice u skupini ELAP.
13. zahvat TURP doveo je do značajnog povećanja i relativnog i apsolutnog broj limfocita T s obilježjima aktiviranih limfocita T (CD3+CD25+), dok se značajne promjene u relativnom i apsolutnom broju limfocita T s obilježjima potpuno aktiviranih T-stanica (HLA-DR+CD3+) ne zapažaju (osim izoliranog sniženja broja tih stanica neposredno nakon ELAP);
14. u ovom radu nije nađen konzistentan trend u reakciji limfocita na mitogenike nakon zahvata TURP i ELAP. Reaktivnost na PHA (u apsolutnim vrijednostima) ostaje gotovo nepromijenjena nakon obaju zahvata, dok stimulacijski indeks pokazuje težnju sniženja. To govori u prilog povećanja spontane reaktivnosti limfocita nakon obaju zahvata (a značajno nakon zahvata ELAP). Reaktivnost na ConA pokazala je, pak, težnju povećanja apsolutnih vrijednosti nakon obaju zahvata, što nije bilo praćeno odgovarajućim porastom indeksa stimulacije: to ponovno govori u prilog povećane spontane proliferacije limfocita nakon obaju zahvata. Reaktivnost na PWM ne pokazuje značajnija odstupanja nakon oba zahvata, uz značajno sniženja stimulacijskog indeksa 1. postoperativnog dana (porast sponatne reaktivnosti).
15. usporedbom svih ispitivanih parametara između skupina ELAP i TURP izlazi da TURP uzrokuje jači odgovor akutne faze tijekom 24 sata nego ELAP, uzimajući u obzir razinu serumskog CRP te porast apsolutnog broja leukocita, neutrofila i monocita u perifernoj krvi. To je u skladu s činjenicom da ELAP predstavlja minimalno invazivnu metodu zahvata na prostati. Drugo, TURP uzrokuje i značajniji

pad vrijednosti hemoglobina i hematokrita nakon zahvata, što govori u prilog agresivnije metode i oštećenja krvnih žila;

16. između zahvata ELAP i TURP nisu uočene statistički značajne razlike u biokemijskim pokazateljima, endokrinološkim pokazateljima (osim izdvojenog nalaza razlike u razini hormona T3 1. postoperativnog dana), sadržaju ukupnih proteina i proteinskih frakcija u serumu, kao i u većini imunoloških parametara;
17. budući da nije bilo značajnih razlika u imunološkim parametrima između zahvata ELAP i TURP, može se sa sigurnošću tvrditi da lasersko zračenje visoke energije nema akutni imunomodulacijski učinak na ljudski organizam.
18. povećanje energije laserskog zračenja nema značajnog utjecaja na postoperativne hematološke, biokemijske, endokrinološke i imunološke pokazatelje u bolesnika podvrgnutih elektivnoj laserskoj ablaciji prostate zbog dobroćudnog uvećanja prostate.

## SAŽETAK

U ovom radu uspoređeni su sustavni učinci kirurškog zahvata na prostati (TURP) s učincima endoskopske laserske ablacije prostate (ELAP), zahvata koji predstavlja jednu od novijih metoda liječenja dobroćudnog uvećanja prostate. Težište istraživanje bilo je na istraživanju učinaka lasera visoke energije na odgovor akutne faze i na sustavne imunološke pokazatelje, te na usporedbi učinaka lasera u odnosu na povećanje primijenjene energije. S praktičnog stajališta važno je utvrditi koji je zahvat za liječenje adenoma prostate prihvatljiviji za bolesnika, posebice uzimajući u obzir starost bolesnika i imunološke parametre.

U istraživanju je bilo 48 bolesnika u dobi između 60 i 70 godina koji su bili podijeljeni u dvije skupine: prva skupina bolesnika liječena je transuretralnom resekcijom adenoma prostate (TURP), a druga endoskopskom laserskom ablacijom prostate (ELAP). Laboratorijsko istraživanje bolesnika prije i nakon zahvata ELAP i TURP uključivalo je hematološke pokazatelje (sedimentaciju eritrocita, broj eritrocita, hematokrit i hemoglobin, broj trombocita, udio i broj leukocita, neutrofilnih leukocita, monocita i limfocita), biokemijske pokazatelje krvi (urea, kreatinin, GUK, AST, ALT, GGT, ALP, CPK, ukupne proteine i proteinske frakcije), endokrinološke pokazatelje (T3, T4, TSH, kortizol i ACTH), te imunološke pokazatelje. Od sastavnica humoralnog imunskog sustava periferne krvi istražen je relativni i apsolutni broj CD19+ limfocita B i razina imunoglobulina IgA, IgG i IgM, dok su od sastavnica humoralne nespecifične imunosti istražene komponente komplementa C3 i C4, kao i C-reaktivni protein. Od sastavnica celularne ili stanične imunosti istražen je relativni i apsolutni broj T-limfocitnih subpopulacija i NK-stanica, a od funkcijskih testova proliferacija mononukleara periferne krvi na mitogenike PHA, ConA i PWM s pomoću timidinskog testa in vitro. Uzorci krvi vađeni su neposredno prije i nakon zahvata, te 1., 6. i 21. postoperativnog dana.

Dobiveni rezultati pokazuju da oba zahvata dovode do lokalnog oštećenja tkiva i sustavnog odgovora organizma na ozljedu, a to se očitovalo promjenom nalaza upalnih, biokemijskih, endokrinoloških, hematoloških i imunoloških pokazatelja u perifernoj krvi

bolesnika. Usporedba postoperativnih pokazatelja između skupina ELAP i TURP pokazuje da zahvat TURP uzrokuje jači odgovor akutne faze od zahvata ELAP unutar prvih 24 sati nakon zahvata. To se posebice odnosi na povećanu razinu serumskog CRP te porast apsolutnog broja leukocita, neutrofila i monocita u perifernoj krvi. Oba zahvata dovela su do značajnog, ali podjednakog povećanja razine CPK u serumu, što govori da je stupanj lokalnog oštećenja tkiva u oba zahvata podjednak. Nasuprot, TURP uzrokuje značajniji pad vrijednosti hemoglobina i hematokrita nakon zahvata, što govori u prilog da on ipak predstavlja agresivniju metodu s većim stupnjem lokalnog oštećenja tkiva i krvnih žila. Glede imunoloških parametara, oba zahvata dovode podjednako do pada razine ukupnih proteina seruma, serumskih frakcija, IgG i komponenti komplemента C3 i C4, dok se broj limfocita B nije mijenjao u odnosu na vrijednosti prije zahvata. Nasuprot tome, stanična imunost nakon obaju zahvata pokazala je promjene u smislu pada broja limfocita, pada broja limfocita T, a posebice pada broja citotoksičnih limfocita T i NK-stanica. Shodno tome postoji značajno povećanje omjera CD4/CD8, posebice u skupini ELAP. Zbog relativno malog broja ispitanika i velikog rasapa podataka, u ovom radu nije nađen konzistentan trend u reakciji limfocita na mitogenike nakon zahvata TURP i ELAP. Općenito, reaktivnost na PHA i PWM (u apsolutnim vrijednostima) ne pokazuje značajnija odstupanja nakon obaju zahvata, dok reaktivnost na ConA pokazuje trend povećanja.

Izuzev reakcije akutne faze, između zahvata ELAP i TURP nisu uočene statistički značajne razlike u većini biokemijskih, endokrinoloških, imunokemijskih i imunoloških pokazatelja. Taj podatak upozorava na to da lasersko zračenje visoke energije nema izražen ni rani niti odgođeni (kasni) imunomodulacijski učinak na ljudski organizmi te da predstavlja minimalno invazivnu metodu liječenja. Štoviše, povećanje energije laserskog zračenja nema značajnog utjecaja na postoperativne hematološke, biokemijske, endokrinološke i imunološke pokazatelje u bolesnika podvrgnutih elektivnoj laserskoj ablaciji prostate.

## **COMPARASION BETWEEN TURP AND ELAP ON POSTOPERATIVE IMMUNOLGIICAL STATUS IN PATIENTS WITH BPH**

### **SUMMARY**

In this investigation systemic effects of transurethral resection of the prostate (TURP) were compared to effects of endoscopic laser ablation of the prostate (ELAP) which represents one of the new methods in treatment of benign prostatic hyperplasia. The aim of the study was to investigate the influence of high-energy laser on acute-phase responses and on systemic immunological exhibitions as well as on analysis of laser effects relating to intensification of energy applied during the procedure. It was of great importance for the clinical praxis to find out which procedure would be more acceptable for patients concerning to their age and immunological parameters.

We investigated 48 patients (aged 60-70 years) who were divided in two groups: first group of patients underwent transurethral resection of the prostate (TURP) and the second group underwent endoscopic laser ablation of the prostate (ELAP). Laboratory consisted of haematology (SE rate, hematocrit, haemoglobin, erythrocyte count, thrombocyte count, the percent and the count of leukocyte, neutrophiles, monocytes and lymphocytes), biochemical parameters (urea, creatinine, glucose, AST, ALT, GGT, ALP, CK, total protein and the protein fractions), endocrinologic parameters (T3, T4, TSH, cortisol, ACTH), and immunologic parameters. Relative and absolute count of CD19+ B-lymphocytes and the levels of IgA, IgG and IgM were analysed among a lot of components of peripheral blood humoral immune system while CRP and complement fractions (C3, C4) were analysed among components of the humoral non-specific immunity. Relative and absolute number of T-lymphocytes subpopulations and NK-cells were investigated related to cellular immunity as well as "in vitro" timidine functional test of peripheral blood monocytes proliferation related to mytogenics PHA, ConA and PWM. Blood samples were collected on day 0 (immediately before and after surgical procedure) and 1, 6 and 21 day postoperative day respectively.

Our investigation found both procedures to cause local tissue damage and systemic reaction of organism referred to the injury. This was presented by changing some values of inflammatory, biochemical, endocrinological, hematological and immunological parameters in peripheral blood samples. Comparing postoperative parameters we found TURP to provoke more intensive acute-phase responses than ELAP during first 24 hours following surgery. These findings were especially related to increased C-reactive protein serum levels and to increasing of leukocyte, neutrophile and monocyte absolute number in peripheral blood. An increase of CK serum levels was found significant. It was similar in both procedures pointing at similarity in local tissue damage. At the same time significantly lower postoperative values of haemoglobine and hematocrite suggested TURP as a more aggressive procedure causing more local damage of tissue and blood vessels. According to immunological parameters both procedure were found to provoke almost equally decreasing of total serum protein level, C3 and C4 components of complement and IgG serum fractions. There were no changes in number of preoperative and postoperative lymphocyte-B. In opposite, the cell immunity demonstrated decreasing of lymphocyte number, lymphocyte-T number and especially in number of cytotoxic lymphocyte-T and NK in both procedures finally resulting in significant increase of CD4/CD8 relation especially in the ELAP group of patients. The consistent trend in reaction of lymphocytes on mytogenics was not found postoperatively in both group of patients by reason of relatively small number of patients and a wide dispersion of results. In general, postoperative PHA and PWM reactivity (in absolute numbers) did not show significant discrepancy in both groups while ConA postoperative reactivity showed an increasing trend.

There were not found statistically significant differences between TURP and ELAP in most of biochemical, endocrinological, immunochemical and immunological parameters except in acute-phase responses reaction. That pointed in conclusion that high-energy laser treatment probably has neither pre-mature nor postponed significant immunomodulative effect on human organism characterizing itself as the minimal invasive treatment method. Moreover, there is no significant influence of magnified laser energy to haematological, endocrinologic and immunologic parameters postoperatively in patients who underwent ELAP.

## LITERATURA

1. Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J Urol* 1984;132:474-480.
2. Harbitz TB and Haugen OA: Histology of the prostate in elderly men, *Acta Pathol. Microbiol. Scand. ( A )* 1972;80:756-81.
3. McConell JD: Epidemiology, ethiology, pathophysiology and diagnosis of benign prostatic hyperplasia. In Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ ( eds): *Campbell's Urology*, ed 7. Philadelphia, WB Saunders Co., 1998: 1433-7.
4. McNeal J: Pathology of benign prostatic hyperplasia: Insight into etiology, *Urol Clin North Am* 1990;17:477-86.
5. Barry MJ, Fowler FJ Jr, O'Leary MP, Bruskewitz RC, Holtgrew HI, Mebust WK, Crockett AT. The American Urological Association symptom index for benign prostatic hyperplasia. The measurement Committee of the American Urological Association. *J Urol* 1992;148:1549-1557.
6. Tchetgen M, Oesterling JE: The role of prostate specific antigen in the evaluation of BPH. *Urol Clin North Am* 1995; 22:333-344.
7. Lepor H: Alpha blockade for the treatment of BPH, *Urol Clin North Am* 1995;22:375-386.
8. Marberger MJ. Long-term effect of finasteride in patients with benign prostatic hyperplasia: a double-blind, placebo-controlled, multicenter study. *Urology* 1998;51 (5):677-686.
9. Fitzpatrick JM, Lynch TH: Phytotherapy for urinary tract infection agents in the management of symptomatic benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am* 1995; 22:407-412.
10. Bajoria S, Agarwal SA, White R et al: Experience with the second generation UroLume prostatic stent. *Br J Urol* 1995;75:325-327.
11. Moseley WG, Goldenburg SI, Marks LS: Balloon dilatation of the prostate: A three year combined center study of 249 patients. ( Abstract ) *J Urol* 1993; 149:1003.
12. Devonec M, Berger N, Perrin P: Transurethral microwave heating of the prostate- or from hyperthermia to thermotherapy. *J Endourol* 1991;5:129-135.

13. Bihrlé R, Foster RS, Sanghvi NT, et al: High intensity focused ultrasound for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1994; 151: 1571-1575.
14. Heaton JPW: Radiofrequency thermal ablation of the prostate: The TUNA technique. *Techn Urol* 1995; 1:2-10.
15. Naryan P, Tewari A, Aboseif S, Evans C. Randomized study comparing visual laser ablation and transurethral evaporation of prostate in the management of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1995, 154:2083-2088.
16. Puppo P, Perachino M, Ricciotti G, Scannapieco G. Transurethral ultrasound-guided laser-induced prostatectomy. *Eur Urol* 1994;25:220-225.
17. C.M.Dixon: Evaluating the efficacy, safety and cost of lasers for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *World J Urol* 1995;13:130-133.
18. R.Muschter, A. Hofstetter: Technique and results of interstitial laser coagulation, *World J Urol* 1995;13:109-114.
19. G.Watson: Contact laser prostatectomy, *World J Urol* 1995;13:115-118
20. Aho TF, Gilling PJ. Laser therapy for benign prostatic hyperplasia: a review of recent developments. *Curr Opin Urol*. 2003;13(1):39-44.
21. Hoffman RM, MacDonald R, Slaton JW, Wilt TJ. Laser prostatectomy versus transurethral resection for treating benign prostatic obstruction: a systematic review. *J Urol*. 2003;169(1):210-5.
22. Kabalin JN, Mackey MJ, Cresswell MD, Fraundorfer MR, Gilling PJ. Holmium:YAG laser resection of prostate ( HoLRP ) for patients in urinary retention. *J Endourol*. 1997;11(4):291-3.
23. Mebust WK, Holtgrewe HL, Cockett ATK, Peters PC, Writing committee. Transurethral prostatectomy: immediate and postoperative complications. a cooperative study of 13 participating institutions evaluating 3 885 patients. *J Urol* 1989;141:243-247.
24. Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature* 1960;187:493-4.
25. Bowker TJ et al.: Excimer laser angioplasty: quantitative comparison in vitro of three ultraviolet wavelengths on tissue ablation and haemolysis. *Lasers Med Sci* 1986;1:47.
26. Schroeder E et al. An ophthalmic excimer laser for corneal surgery. *Am J Ophthalmol* 1987;103:472



27. Goldman L. Basic reactions in tissue. In: Goldman L ed: The biomedical laser. New York: Springer-Verlag Inc 1981:7-11.
28. Nakamura S, Nishiwaki Y, Suzuki S, Sakaguchi S, Yamashita Y, Ohta K, Light attenuation of human liver and hepatic tumors after surgical resection. *Lasers Surg Med* 1991;10:12-15.
29. Dougherty TJ, Marcus SL Photodynamic therapy. *Eur J Cancer* 1992;28 A/10:1734-41.
30. Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schon H, Kerschman K, Knobler R, Schindl L Diabetic neuropathic foot ulcer: successful treatment by low-intensity laser therapy, *Dermatology* 1999;198(3):314-6.
31. Waidelich W. Thermal effects of laser. In: Hofstetter AG, ed. *Lasers in Urological Surgery*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 1997:22-24.
32. Ara G, Anderson RR, Mandel KG, Ottesen M, Oseroff. Irradiation of pigmented melanoma cells with high intensity pulsed radiation generates acoustic waves and kills cells. *Laser Surg Med* 1990;10:52-9.
33. Špicki B. Elektro-optika i IC uređaji ( III dio ). *Lasери*. Hrvatski vojniki 1993;42:62-6.
34. Letokhov VS. Laser biology and medicine. *Nature* 1986;316:325-30.
35. Goldman L, Rockwell RJ. Laser action at the cellular level. *JAMA* 1966;198:641-4.
36. Baumgartner R, Kriegmair M, Jocham D, Hofstetter AG, Huber R, Karg O, Haussinger K Photodynamic diagnosis (PDD) of early stage malignancies- preliminary results in urology and pneumology. In: Mang TT, ad. *Physiological monitoring and early detection diagnostic methods*. SPE Prog 1992;1641: 107-19.
37. Kelly IF, Snell ME. Hematoporphyrin derivative: a possible aid in the diagnosis and therapy of carcinoma of the bladder. *J Urol* 1976;115:150-7.
38. Marynissen JPA, Jansen H, Star WM. Treatment system for whole-bladder-wall photodynamic therapy with in vivo monitoring and control of light dose rate and dose. *J Urol* 1989;142:1351-7.
39. Čupak K. History of laser application. In: Krajina Z, Čupak K, ed *Laser in medicine*. Zagreb: SNL 1984:93-101.
40. Morris AI, Krasner N, Cracknell P, Advances in gastrointestinal endoscopy and laser therapy: the way ahead, *Scand J Gastroenterol* 1985; 20) suppl 117): 55-61.

41. Zakharov PI, Pielvina LV; Builin VA; Aliseenko VI, Evstigneev AP, Kolosov MD. Low-intensive lasers in the treatment of peptic and duodenal ulcers. *J Clin Laser Med Surg* 1991;9 (4): 251-7.
42. Polla LL, Tan OT, Garden JM, Parrish JA. Tunable pulsed dye laser for treatment of benign vascular actasia. *Dermatologica* 1987;174:11-17.
43. Wieman TJ. Lasers and the surgeon. *Am J Surg* 1986;151:493-500.
44. Steiner W. Endoscopic laser surgery in the upper aero-digestive tract- experience with CO<sub>2</sub> and argon laser. In: Krajina Z, Čupak K, ed *Laser in medicine*. Zagreb:SNL 1984:37-44.
45. Di Bartolomeo JR. The argon and CO<sub>2</sub> lasers in otorinolaryngology. Which one. When and why? In: Krajina Z, Čupak K. ed *Laser in medicine*. Zagreb:SNL 1984:73-98.
46. Negovetić L, Lupret V, Lovrić D, Vidović D, Gnjidić Ž. Primjena lasera u neurokirurgiji. U: Negovetić L, Lupret V, Skala K, ed: *Laser u kirurgiji glave i vrata*. Zagreb: Tehnička knjiga, 1990:66-69.
47. Brunetaud JM, Maunoury P, Ducrotte P, Cochelard D, Cortot A, Paris JC. Palliative treatment of rectosigmoid carcinoma by laser endoscopic photoablation. *Gastroenterology* 1987;92:663-8.
48. Hofstetter AG. Application of lasers in bladder cancer. *Semin Surg Oncol* 1992;8:214-6.
49. Ginsburg R, Kim DS, Guthaner D, Toth J, Mitchell RS. Salvage of an ischemic limb by laser angioplasty: description of a new technique. *Clin Cardiol* 1984;7:54-8.
50. Thomas S, Jurgen P, Engelhardt R, Meyer W, Hofstetter AG. The pulsed dye laser versus Q-switched Nd:YAG laser in laser-induced shock-wave lithotripsy. *Lasers Surg Med* 1988;8:363-70.
51. Razvi HA, Denstedt JD, Chun SS, Sales JL. Intracorporeal lithotripsy with the holmium:YAG laser. *J Urol* 1996;156:912-4.
52. McIver BD, Griffin KP, Harris M, Teichmen JMH. Cystoscopic holmium lithotripsy of large bladder calculi. *Techn Urol* 1996;2:65-67.
53. Grasso M. Experience with the holmium laser as an endoscopic lithotrite. *Urology* 1986;48:199-206.

54. Murray LW, Su L, Kopchok GE, White RA. Crosslinking of extracellular matrix proteins: a preliminary report on a possible mechanism of argon laser welding. *Lasers Surg Med* 1989;9:490-6.
55. Jain KK, Gorisch W. repair of small blood vessels with Nd:YAG laser: A preliminary report. *Surgery* 1979;85:584-8.
56. Kuroyanagi Y, Taguchi M, Yano T, et al. Argon laser - assisted anastomoses in medium- size vessels: One-year follow up. *Lasers Surg Med* 1991;11:223-31.
57. Lawrence PF, Li K, Merrell SW, Goodman GR. A comparison of absorbable suture and argon laser welding for lateral repair of arteries. *J Vasc Surg* 1991;14:184-9.
58. Gilbert PTO, Beckert R. Laser assisted vasovasostomy. *Lasers Surg Med* 1989;9:42-4.
59. Sauer JS, Hinshaw JR, McGuire KP. The first sutureless, laser-welded, end to end bowel anastomosis. *Lasers Surg Med* 1989;9:70-3.
60. Roberts WG, Liaw LHL, Berns MW. In vitro photosensitization II. An electron microscopy study of cellular destruction with mono-I-aspartyl chlorin  $e_6$  and photofrin II. *Lasers Surg Med* 1989;9:102-8.
61. Benson RC Jr. Hematoporphyrin derivative photodynamic therapy: application to urology. In Smith JA Jr, Stein BS, Benson RC Jr. Sec. Ed. *Lasers in urologic surgery*. Chicago: Year Book Medical Publishers, INC, 1989:147-64.
62. Hayata TJ, Kato H, Konaka C et al. Hematoporphyrin derivative and laser photoradiation in the treatment of lung cancer. *Chest* 1982;81:269-77.
63. McCaughan JS Jr, Nims TA, Guy JT, Hicks WJ, Williams TE Jr, Laufnab LR. Photodynamic therapy for esophageal tumors. *Ch Surg* 1989;124:74-80.
64. Waldow SM, Lobraico RV, Kohler IK, Walk S, Fritts HT. Photodynamic therapy for treatment of malignant cutaneous lesions. *Lasers Surg Med* 1987;7:451-6.
65. Giaveli S, Fava G, Castranuovo G, Spinoglio L, Galanti A. Low level laser therapy in osteoarticular diseases in geriatric patients. *Radiol Med Torino* 1998;95(4): 303-9.
66. Mester E, Mestaer AF, Mester A. The biomechanical effects of laser application. *Lasers Surg Med* 1985;5:31-9.
67. Walker JB, Akhanjee LK, Cooney MM, Goldstein J, Tamayoshi S, Sgal-Gidan F. Laser therapy for pain of rheumatoid arthritis. *Clion J Pain* 1987;3:54-9.

68. Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG. Effect of laser rays on wound healing. *Am J Surg* 1971;122:532-5.
69. Basford JR. Low energy laser treatment of pain and wounds: hype, hope or hokum? *Mayo Clin Proc* 1986;61:671-5.
70. Ditrichova D, Malinsky J, Buček K, Kolarova H. Application of biostimulative effects of He-Ne laser in the therapy of crural ulcers ultrastructural findings in irradiated tissue. *Acta Univ Palacki Olomuc ( Olomuc ) Fac Med* 1988;19:337-46.
71. Porteder H, Strassi H, Stanek G, Vinzenz K. Einsatz des Helium-Neon Lasers zur Förderung der Wundheilung. *Österr Z Stomatoll* 1983;80:333-9.
72. Lundberg T, Malm M. Low-power He-Ne laser treatment of venous leg ulcers. *Ann Plast Surg* 1991;27:537-9.
73. Garden JM, O'Banion MK, Shelnitz LS et al. Papillomavirus in the vapor of carbon dioxide laser-treated verrucae. *JAMA* 1988;259: 1199.1202.
74. Schneede P, Hofstetter AG. Laserstrahlen zur Behandlung von HPV-Effloreszenzen. *Lasermedizin* 1992;8:202-5.
75. Schneede P, Hofstetter AG. Condylomata acuminata and other viral skin lesions. In: Hofstetter AG, ed. *Lasers in Urological Surgery*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg;1997: 46-56.
76. Rothenberger KH, Hofstetter AG. Penile carcinoma. In: Hofstetter AG, ed. *Lasers in Urological Surgery*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg;1997: 56-61.
77. Schneede P, Klammert R, Hofstetter AG. Laser treatment of urethral strictures. In: Hofstetter AG, ed. *Lasers in Urological Surgery*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg;1997: 62-67.
78. Hofstetter AG. Bladder cancer. In: Hofstetter AG, ed. *Lasers in Urological Surgery*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg;1997: 67-77.
79. Dunschee C, Shanberg AM. Benign diseases of the bladder. In: Smith JA, Stein BS, Benson RC (eds) *Lasers in urological surgery*. Mosby, St.Louis;1993:107-12.
80. Keeley FX Jr, Bibbo M, Baghley DH. Ureteroscopic treatment and surveillance of upper urinary tract transitional cell carcinoma. *J Urol* 1997; 157:1560-65.
81. Bagley D, Erhard M. Use of the holmium laser in the upper urinary tract. *Techn Urol* 1995;1:25-30.

82. Erhard M, Salwen J, Bagley DH. Ureteroscopic removal of mid and proximal ureteral calculi. *J Urol* 1996;155:38-42.
83. Böwering R, Hofstetter AG, Keiditsch E, Frank F. Irradiation of prostatic carcinoma by Nd:YAG laser. In: *Optics and photonics applied to medicine. SPIE Proc* 1979;211:16-20.
84. Camey M, LeDuc A. Preliminary study of the action of the YAG laser on canine prostatic adenoma and experimental urethral stenosis. *Eur Urol* 1980;6:175-9.
85. Sander S, Beisland HO. Laser in the treatment of localized prostatic carcinoma. *J Urol* 1984;132:280-81
86. McNicholas TA, Carter StC, Wickham JEA, O'Donoghue EPN. YAG laser treatment of early carcinoma of the prostate. *Br J Urol* 1988;61:239-43,
87. Beisland HO. Laserbehandlung des lokalisierten Prostatakarzinomas. In: Stachler G, Fabricius PG (ed). *Das Prostatakarzinom. Diagnostik und Therapie*. Springer, Berlin Heidelberg New York 1990:97-101.
88. Vahlensieck W, Schoeneich G, Vogel J. Adjuvante transurethrale Laserbehandlung des Prostatakarzinomas mit dem 70° Umlenkprisma. *Urologe B* 1990;13:88-93.
89. Roth RA, Aretz HT. Transurethral ultrasound-guided laser-induced prostatectomy (TULIP procedure): a canine prostate feasibility study. *J Urol* 1991;146:1128-35.
90. Hofstetter AG. Laser in the Urologie: neuere Entwicklungen und Forschungsprojekte. *Laermedizin* 1992;8:69-72.
91. Johnson DE, Price RE, Cromeens DM. Pathological changes occurring in the prostate following transurethral laser prostatectomy. *Lasers Surg Med* 1992;12:254-263.
92. Shanberg AM, Tansey LA, Baghdassarian R. The use of Nd:YAG laser in prostatectomy *J Urol* 1985;133 (suppl):196 A.
93. Gilling PJ, Cass CB, Cresswell MD, Malcolm AR, Fgraundorfer MR. The use of the holmium laser in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *J Endourol* 1996;5:459-61.
94. Assimos DG, McCullough DL, Woodruff RD, Harrison LH, Hart LJ, LiWJ. Canine transurethral laser-induced prostatectomy. *J Endourol* 1991;5:145-9.
95. McCullough DL. This month in investigative urology: transurethral laser treatment of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1991;146:1126-7.

- 96.Roth RA, Aretz HT. Transurethral ultrasound-guided laser-induced prostatectomy ( TULIP procedure ): a canine prostate feasibility study. J Urol 1991;146:1128-35.
- 97.Schulze H, Martin W, Engelmann U, Senge T. TULIP- transurethrale ultraschallgeführte laserinduzierte Prostatektomie: eine Alternative zur TURP? Urologe A 1993;32:225-231.
- 98.Muschter R, Hofstetter AG. Laserbehandlung der benignen Prostatahyperplasie. Urologe A 1994;33:281-7.
- 99.Hofstetter AG. Interstitielle Thermokoagulation ( ITK ) von Prostatatumoren. Lasermedizin 1991;7:179.
- 100.Hofstetter AG. Laser in the Urologie: neuere Entwicklungen und Forschungsprojekte. Lasemedizin 1992;8:69-72.
- 101.Muschter R, Perlmutter AP, Anson K et al. Diode lasers for interstitial laser coagulation of the prostate. SPIE Proc 1995;2395:77-82.
- 102.Muschter R, Hofstetter AG. Interstitial laser therapy outcomes in benign prostatic hyperplasia. J Endourol 1995;9:129-35.
- 103.Muschter R, Zellner M, Hessel S, Hofstetter AG. Die interstitielle laserinduzierte Koagulation ( ILK ) der Prostata zur Therapie der benignen Hyperplasie ( BPH ). Urologe A 1995;34:90-97.
- 104.Shanberg AK, LeeIS, Tansey LA, Sawyer DE. Extensive Nd:YAG photoirradiation of the prostate in men with obstructive prostatism. Urology 1994;43:467-71.
- 105.Fournier GR Jr, Tewari A, Induhara R, Gajenderan V, Narayan P. Nd:YAG laser transurethral evaporation of the prostate (TUEP) for urinary retention. Lasers Surg Med.1996;19(4):480-6.
- 106.Gottfried HW, Frohneberg D, de la Rosette JJMCH, Lawrencw W, Hautmann RE. Transurethral laser ablation of prostate ( TULAP ). Experience of a European multicenter study using ultarline fiber. J Urol 1995;153:230A.
- 107.Gilling PJ, Cass CB, Malcom AR, Fraundorfer MR. Combination holmium and Nd:YAG laser ablation of the prostate: initial clinical experience. J Endourol 1995;9:151-3.

- 108.Narayan P, Tewari A, Fournier G, Toke A. Impact of prostate size on the outcome of transurethral laser evaporation of the prostate for benign prostatic hyperplasia. *Urology* 1995;45:776-82.
- 109.Daughtry JD. Transurethral contact laser resection of the prostate. *J Urol* 1992;147(suppl ) 201A.
- 110.Daughtry JD, Rodan BA. Transurethral laser prostatectomy: A comparison of contact tip mode and lateral-firing free beam mode. *J Clin Laser Med Surg* 1993;11:21-8.
- 111.Muschter R, Perlmutter AP. The optimization of laser prostatectomy. II. Other lasing techniques. *Urology* 1994;44:856-61.
- 112.Keoghane SR, Cranston DW, Lawrance KC, Doll HA, Fellows GH, Smith C. The Oxford Laser Prostate Trial: a double-blind randomized controlled trial of contact vaporization of the prostate against transurethral resection; preliminary results *Br J Urol* 1996;77:382-5.
- 113.Watson GM, Perlmutter A, Shah T. A laser balloon for prostatic outflow obstruction. *J Endourol* 1991;5 (suppl ):S90.
- 114.Gilling PJ, Cass CB, Cresswell MD, Fraundorfer MR. Holmium laser resection of the prostate: preliminary results of a new method for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Urology* 1996;47:48-51.
- 115.Cresswell MD, Cass CB, Fraundorfer MR, Gilling PJ. Holmium:YAG laser resection of the prostate: preliminary experience with the first 400 cases. *N Z Med J* 1997; 110(1039): 76-8.
- 116.Kuntz RM, Lehrich K. Transurethral holmium laser enucleation versus transvesical open enucleation for prostate adenoma greater than 100 gm.: a randomized prospective trial of 120 patients. *J Urol* 2002;168:1465-9.
- 117.Matsuoka K, Iida S, Tomiyasu K, Shimada A, Suekane S, Noda S. Holmium laser resection of the prostate. *J Endourol* 1998;3:279-82.
- 118.Gilling PJ, Cass CB, Malcom A, Cresswell M, Fraundorfer MR, Kabalin JN. Holmium laser resection of the prostate versus neodymium:yttrium-aluminium-garnet visual laser ablation of the prostate: a randomized prospective comparison of two techniques for laser prostatectomy. *Urology* 1998;4:573-7.

119. Mackey MJ, Chilton CP, Gilling PJ, Fraundorfer M, Cresswell MD. The results of holmium laser resection of the prostate. *Br J Urol* 1998;4:518-9.
120. Swol CFP, Verdaasdonk RM, Vliet RJ, Molenaar DG, Boon TA. Side-firing devices for laser prostatectomy. *World J Urol* 1995;13:88-93.
121. Johnson DE, Costello AJ, Wishnow KI: Transurethral laser prostatectomy using a right-angle delivery system. *Laser Surg Med (Suppl)* 1991;3:76.
122. Johnson DE, Levinson AK, Greskovich FJ, Cromeens DM, Ro JY, Costello AJ, Wishnow KI. Transurethral laser prostatectomy using a right-angle delivery system. *SPIE Proc* 1991;1421:36-41.
123. Johnson DE, Price RE, Cromeens DM. Pathologic changes occurring in the prostate following transurethral laser prostatectomy. *Lasers Surg Med* 1992;12:254-259.
124. Costello AJ, Bowsher WG, Bolton DM, Barilis KG, Burt J. Laser ablation of the prostate in patients with benign prostatic hypertrophy. *Br J Urol* 1992;69:603-608.
125. Costello AJ, Johnson DE, Bolton DM. Nd:YAG laser ablation of the prostate as a treatment for benign prostatic hypertrophy. *Lasers Surg Med* 1992;12:121-4.
126. Norris JP, Norris DM, Lee RD, Rubenstein MA. Visual laser ablation of the prostate: clinical experience in 108 patients. *J Urol* 1993;150:1612-1614
127. Wildt MJAM, Slaa ET, Rosier PFWM, Wijkstra H, Debruyne FMJ, Rosette JJMCH. Urodynamic results of laser treatment in patients with benign prostatic hyperplasia. Can outlet obstruction be relieved. *J Urol* 1995;154:174-80.
128. Anson K, Watson G. The current status of the use of lasers in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Br J Urol* 1995;75, Suppl.1:34-41.
129. Shanberg AM, Lee IS, Tansey LA, Sawyer DE. Extensive Nd:YAG photoirradiation of the prostate in men with obstructive prostatism. *Urology* 1994;43:467-71.
130. Kabalin JN, Bite G, Doll S. Neodymium:YAG laser coagulation prostatectomy 3 years of experience with 227 patients. *J Urol* 1996;155:181-185.
131. Perlmutter AP, Muschter R. The optimization of laser prostatectomy part I: free beam side fire coagulation. *Urology* 1994;44:847-855.
132. Kollmorgen TA, Alek RS, Barret DM. Laser prostatectomy: two and half year's experience with aggressive multifocal therapy. *Urology* 1996;8:217-222.



133. Kabalin JN, Gill HS, Bite G. Laser prostatectomy performed with a right-angle firing Nd:YAG laser fiber at 60 watts power setting. *J Urol* 1995;153:1502-5.
134. Orihuela E, Motamedi M, Cammack T, Torres JH, Pow-Sang M, LaHaye M, Cowan DF, Warren MM. Comparison of thermocoagulation effects of low power, slow heating versus high power, rapid heating Nd:YAG laser regimens in a canine prostate model. *J Urol* 1995;153:195-200.
135. Kabalin JN, Terris MK, Mancianti ML, Fajardo LF. Dosimetry studies utilizing the Urolase right-angle firing Nd:YAG laser fiber in the human prostate. *Laser Surg Med* 1996;18:72-80.
136. Kabalin JN. Laser prostatectomy performed with a right angle firing Nd:YAG laser fiber at 40 watts power setting. *J Urol* 1993;150:95-99.
137. Kabalin JN, Gill HS, Bite G, Wolfe V. Comparative study of laser versus electrocautery prostatic resection: 18-month followup with complex urodynamic assessment. *J Urol* 1995;153:94-98.
138. Dixon CM. A comparison of transurethral prostatectomy with visual laser ablation of the prostate using Urolase right-angle laser fiber for treatment of BPH. *World J Urol* 1995; 13:126-129.
139. James MJ, Harriss DR, Ceccherini A, Manhire AR, Bates CP. A urodynamic study of laser ablation of the prostate and a comparison of techniques. *Br J Urol* 1995;76:179-83.
140. Cowles RS, Kabalin JN, Childs S, Lepor H, Dixon C, Stein B, Zabbo A. A prospective randomised comparison of transurethral resection to visual laser ablation of the prostate for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Urology* 1995;46:155-61.
141. Donovan JL, Peters JT, Neal ED, Brookes ST, Gujral S, Chacko KN, Wright M, Kennedy LG, Abrams P. A randomized trial comparing transurethral resection of the prostate, laser therapy and conservative treatment of men with symptoms associated with benign prostatic enlargement: the CLasP study. *J Urol* 2000;164:65-70.
142. Gujral S, Abrams P, Donovan JI, Neal DE, Brookes ST, Chacko KN, Wright MJ, Timoney AG, Peters TJ. A prospective randomized trial comparing transurethral

- resection of the prostate and laser therapy in men with chronic urinary retention: the CLasP study. *J Urol* 2000;164:59-64.
- 143.Linn BS, Jensen J. Age and immune response to a surgical stress. *Arch Surg* 1983;118:405-409
- 144.Harmsen AG, Turney TH. Inhibition of in vivo neutrophil accumulation by stress. Possible role of neutrophil adherence. *Inflammation* 1985;9:9-20.
- 145.Hansbrough JF, Bender EM, Zapata-Sirvent R, Anderson J. Altered helper suppressor lymphocyte populations in surgical patients. *Am J Surg* 1984;148:303-307.
- 146.Rodrick ML, Wood JJ, O'Mahony JB, Davis FC, Grbic JT, Demling RH, Moss NM, Saporoschetz I, Jordan A, D'Eon P, Mannick JA. Mechanisms of immunosuppression associated with severe nonthermal injuries in man: production of interleukin 1 and 2. *J Clin Immunol* 1986;6:310-318.
- 147.Meakins JL. Host defense mechanisms in surgical patients: effect of surgery and trauma. *Acta Chir Scand* 1988; Suppl 550:43-53.
- 148.Holliday JE. Stress related impairments in cellular immunity. *Psychiatry res* 1985;16:233-239.
- 149.Dekaris D, Sabioncello A, Kocijan\_Hercigonja D, Mažuran R, Svoboda-Beusan I, Rijavec M, Dekaris D. Immunological status of Victim of War: Croatian refugees and Bosnian prisoners. *Acta Med Croat* 1993;47:27-29.
- 150.Abraham E. Host defense abnormalities after hemorrhage, trauma and burns. *Crit Care Med* 1989;17(9):934-939.
- 151.Berggren U, Gordh T, Grama D, Haugland U, Rastad J, Arvidsson D. Laparoscopic versus open cholecystectomy: hospitalization, sick leave, analgesia and trauma responses. *Br J Surg* 1994;81:1362-1365.
- 152.Shulze S. Humoral and neural mediators of the systemic response to surgery. *Danish Medic Bulletin* 1993;40:365-377.
- 153.Weissman C. The metabolic response to stress: an overview and update. *Anesthesiology* 1990;73:308-27.
- 154.Douglas RG, Shaw JHF. Metabolic response to sepsis and trauma. *Br J Surg* 1989;76:115-22.

155. Cutbertson DP. The metabolic response to injury and its nutritional implications: retrospect and prospect. *J Parent Ent Nutr* 1979;3:108-129.
156. Weissman C. The metabolic response to stress: an overview and update. *Anesthesiology* 1990; 73:308-27.
157. Kehlet H. Beneficial effects of stress response blockade on patients undergoing surgery. In: Faist E, Meakins J, Schildberg FW, ed: *Host defense dysfunction in trauma, shock and sepsis. Mechanisms and therapeutic approaches*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1993;67-71.
158. Crane CW, Picou D, Smith R, Watwrlow JC. Protein turnover in patients before and after elective orthopaedic operations. *Br J Surg* 1977;64:129-33.
159. Kinney JM, Elwyn DH: Protein metabolism in the traumatised patients. *Acta Chir Scand* 1985;522(suppl):45-6.
160. Hensler T, Hecker H, Heg K et al. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infect Immun* 1997;65:2283-9.
161. Fisher JE, Hasselgren PO. Cytokines and glucocorticoids in the regulation of the hepato-skeletal muscle axis in sepsis. *Am J Surg* 1991;161:266-71.
162. Kehlet H. The stress response to anaesthesia and surgery: release mechanisms and modifying factors. *Clin Anaesthesiol* 1984;2:315-319.
163. Prescott RWG, Yeo PPB, Watson MJ, Johnston IDA, Ratcliffe JG, Evered DC: Total and free thyroid hormone concentrations after elective surgery. *J Clin Path* 1979;32:321-324.
164. Dinarello CA, Mier JW. Lymphokines. *N Engl J Med* 1987;317:940-55.
165. O'Garra A. Peptide regulatory factors. Interleukins and immune system 1. *Lancet* 1989;I:943-947
166. Fong Y, Moldawer LL, Shires GT, Lowry SF. The biologic characteristics of cytokines and their implication in surgical injury. *Surg Gynecol Obstet* 1990;170:363-78.
167. Solomkin JS, Simons RL. Cellular and subcellular mediators of acute inflammation. *Surg Clin North Am* 1983;63:225-43.
168. Holaday JW, Kenner JR, Smith PF, Bryant HU, Bernton EW. Neuroendocrine regulation of immune function. In: Faist E, Meakins J, Schildberg FW, ed: *Host*

- defense dysfunction in trauma shock and sepsis. Mechanisms and therapeutic approaches. Berlin, Heidelberg, New York:Springer -Verlag, 1993;59-65.
- 169.Mealy K, Lanschot JJB, Robinson BG, Rounds J, Wilmore DW. Are the catabolic effect of tumor necrosis factor mediated by glucocorticoids. *Arch Surg* 1990;125:42-8.
- 170.Raja SN, Meyer RA, Cambell JN. Peripheral mechanisms of somatic pain. *Anesthesiology* 1988;68:571-90.
- 171.Brandt MR, Fernandes A, Mordhorst R, Kehlet H. Epidural anesthesia improves postoperative nitrogen balance. *Br Med J* 1978;1:1106-8.
- 172.Kehlet H. The stress response to anaesthesia and surgery: release mechanisms and modifying factors. *Clin Anaesthesiol* 1984;2:315-39.
- 173.Scott NB, Kehlet H. Regional anaesthesia and surgical morbidity. *Br J Surg* 1988;75:299-304.
- 174.Tsuji H, Shirasaka C, Asoh T, Takeuchi Y. Influences of splanchnic nerve blockade on endocrine-metabolic responses to upper abdominal surgery. *Br J Surg* 1983;70:437-9.
- 175.Kehlet H. Surgical stress: the role of pain and analgesia. *Br J Anaesth* 1989;63:189-95.
- 176.Davies CL, Newman RJ, Molyneux SG, Graham-Smith DG. The relationship between plasma catecholamines and severity of injury in man. *J Trauma* 1984;24:99-105.
- 177.Chernow B, Alexander HR, Smallridge RC et al. Hormonal responses to graded surgical stress. *Arch Intern Med* 1987;147:1273-8-
- 178.Di Padova F, Pozzi C, Tondre MJ, Tritapepe R. Selective and early increase of IL-1 inhibitors, IL-6 and cortisol after elective surgery. *Clin Exp Immunol* 1991;85:137-42.
- 179.Nordenstrom J, Sonnenfeld T, Arner P. Characterisation of insulin resistance after surgery. *Surgery* 1989;105:28-35.
- 180.Donald RA, Perry EG, Wittere GA et al. The plasma ACTH, AVP,CRH and catecholamine responses to conventional and laparoscopic cholecystectomy. *Clin Endocrinol Oxf* 1993;38:609-15.

181. Whelan P, Morris PJ. Immunological responsiveness after transurethral resection of the prostate: general versus spinal anaesthetic. *Clin Exp. Immunol.* 1982;48:611-618.
182. Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra JD. *Immunobiology. The Immune System in Health and Disease.* 4<sup>th</sup> edition. London: Current Biology Publication & New York: Garland Publishing, 1999.
183. Marušić. Fiziološki tijek imunološke reakcije, U: Andreis I, Čulo F, Marušić M, Taradi M, ur. *Imunologija, Medicinska naklada Zagreb*, 1998:221-249.
184. Hammar H. Wound healing. *Int J Dermatol* 1993;32:6-15.
185. Stephan RN, Ayala A, Harkema JM, Dean RE, Border JR, Chaudry IH. Mechanism of immunosuppression following hemorrhage; defective antigen presentation by macrophages. *J Surg Res* 1989;46:553-6.
186. Stephan RN, Conrad PH, Saizawa M, Dean RE, Chaudry IH. Prostaglandin E<sub>2</sub> depress antigen presenting cell function of peritoneal macrophages. *J Surg Res* 1988;44:733-9.
187. Miller CL, Fink MP, Wu JY, Szabo G, Kodys K. Mechanisms of altered monocyte prostaglandin E<sub>2</sub> production in severely injured patients. *Arch Surg* 1988;123:293-9.
188. Grzelak I, Olszewski WL, Rowinski W. Blood mononuclear cell production of IL-1 and IL-2 following moderate surgical trauma. *Eur Surg Res* 1989;21:114-22.
189. Takayama TK, Miller C, Szabo G. Elevated tumor necrosis factor  $\alpha$  production concomitant to elevated prostaglandin E<sub>2</sub> production by trauma patients' monocytes. *Arch Surg* 1990;125:29-35.
190. Ayala A, Perrin MM, Ertel W, Chaudry IH. Differential effects of hemorrhage on Kupffer cells: decreased antigen presentation despite increased inflammatory cytokine (IL-1, IL-6 and TNF) release. *Cytokine* 1992;4:66-75.
191. Faist E, Kupper TS, Baker CC, Chaudry IH, Dwyer J, Baue AE. Depression of cellular immunity after major injury. Its association with posttraumatic complications and its reversal with immunomodulation. *Arch Surg* 1986;121:1000-5.
192. Warden GD, Masson AD Jr, Pruitt BAJr. Evaluation of leukocyte chemotaxis in vitro in thermally injured patients. *J Clin Invest* 1974;54:1001-4.
193. Heideman M, Bengtsson A. The immunologic response to thermal injury. *World J Surg* 1992;16(1):43-6.

194. Maderazo E, Albano SD, Wornick CL, Drezner AD, Quercia R. Polymorphonuclear leukocyte migration abnormalities and their significance in severely traumatized patients. *Ann Surg* 1983;198:736-42.
195. Ward Pa, Mulligan MS, Warren JS. Neutrophils, cytokines, oxygen radicals and lung injury. In: Faist E, Meakins J, Schildberg FW, ed: *Host defense dysfunction in trauma shock and sepsis. Mechanisms and therapeutic approaches*. Berlin, Heidelberg, New York:Springer -Verlag, 1993; 177-80.
196. Rokke O, Revhaug A, Giercksky KE. Polymorphonuclear leucocyte activation after trauma: evidence for increased generation of oxygen radicals in response to in vitro endotoxin stimulation. *Acta Chir Scand* 1989;155:233-9.
197. Christou NV, Tellado JM. In vitro polymorphonuclear neutrophil function in surgical patients does not correlate with anergy but with "activating" processes such as sepsis or trauma. *Surgery* 1989;106:718-24.
198. Dong Y-I, Abdullah K, Yan TZ et al. Effect of thermal injury and sepsis on neutrophil function. *J Trauma* 1993;34:417-21.
199. Mannick JA. Trauma, sepsis and immune defects. In: Faist E, Meakins J, Schildberg FW, ed: *Host defense dysfunction in trauma shock and sepsis. Mechanisms and therapeutic approaches*. Berlin, Heidelberg, New York:Springer -Verlag, 1993; 15-21.
200. Tellado JM, Christou NV. Intravascular activation of polymorphonuclear neutrophils in critically ill anergic patients. In: Faist E, Meakins J, Schildberg FW, ed: *Host defense dysfunction in trauma shock and sepsis. Mechanisms and therapeutic approaches*. Berlin, Heidelberg, New York:Springer -Verlag, 1993; 15-21.
201. Botha AJ, Moore FA, Moore EE, Sauaia A, Banerjee A, Peterson VM. Early neutrophil sequestration after injury: a pathogenic mechanism for multiple organ failure. *J Trauma* 1995;39:411-7.
202. Pollock RE, Bablock GF, Ramsdahl MM et al. Surgical stress-mediated suppression of murine natural killer cytotoxicity. *Cancer Res* 1984;44:3888-91.
203. Tannesen E, Mickley H, Grunnet N. Natural killer cell activity during premedication, anesthesia and surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1983;27:238-41.
204. Ryhanen P, Huttenen K, Ilonen J. Natural killer cell activity after open-heart surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1984;28:490-2.

205. Tannesen E, Huttel MS, Christensen NJ, Schmitz O. Natural killer cell activity in patients undergoing upper abdominal surgery: relationship to the endocrine stress response. *Acta Anaesthesiol Scand* 1984;28:654-60.
206. Greiffith CD, Rees RC, Platts A, Jeremy A, Peel J, Rogers K. The nature of enhanced natural killer lymphocyte cytotoxicity during anesthesia and surgery in patients with benign disease and cancer. *Ann Surg* 1984;200:753-8.
207. Tonnesen E, Brinklov MM, Christensen NJ, Olesen AS, Madsen T. Natural killer cell activity and lymphocyte function during and after coronary bypass grafting in relation to the endocrine stress response. *Anesthesiology* 1987;67:526-33.
208. Koltun WA, Bloomer MM, Tilberg AF et al. Awake epidural anesthesia is associated with improved natural killer cell cytotoxicity and reduced stress response. *Am J Surg* 1996;171:68-73.
209. Kagan RJ, Bratescu A, Jonasson O, Matsuda T, Teodorescu M. The relationship between the percentage of circulating B cells, corticosteroid levels and other immunologic parameters in thermally injured patients. *J Trauma* 1989;29:208-13.
210. Munster AM, Hoagland HC, Pruitt BA. The effect of thermal injury on serum immunoglobulins. *Ann Surg*;1970;172:965-9.
211. Nohr CW, Christou NV, Rode H, Gordon J, Meakins JL. In vivo and in vitro humoral immunity in surgical patients. *Ann Surg* 1984;200:373-80.
212. Nohr CW, Latter DA, Christou NV, Meakins JL. In vivo and in vitro humoral immunity in surgical patients:: antibody response to pneumococcal polysaccharide. *Surgery* 1986;100:229-38.
213. McRitchie DI, Girroti JM, Rotstein OD, Teodorczyk-Injeyan JA. Impaired antibody production in blunt trauma. Possible role of T cells dysfunction. *Arch Surg* 1990;125:91-96.
214. Richter M, Jodouin C-A, Moher D, Barron P. Immunologic defects following trauma: A delay in immunoglobulin synthesis by cultured B cells following traumatic accidents but not elective surgery. *J Trauma* 1990;30:590-6.
215. O'Mahoney JB, Wood JJ, Rodrick ML, Mannick JA. Changes in T lymphocyte subsets following injury. Assessment by flow cytometry and relationship to sepsis. *Ann Surg* 1985;202:580-6.

216. Burleson DG, Vaughn GK, Mason AD, Pruitt BA Jr. Flow cytometric measurement of rat lymphocyte subpopulations after burn injury and burn injury with infection. *Arch Surg* 1987;122:216-220.
217. Hansbrough JF, Gadd MA. Temporal analysis of murine lymphocyte subpopulation by monoclonal antibodies and dual-color flow cytometry after burn and nonburn injury. *Surgery* 1989;106:69-80.
218. Zapata-Sirvent RI, Hansbrough JF. Temporal analysis of human leucocyte surface antigen expression and neutrophil respiratory burst activity after thermal injury. *Burns* 1993;19:5-11.
219. Holch M, Grob PJ, Fierz W, Glinz W, Geroulanos S. Immunesupresion durch Operationen und schwerw Traumen. *Helv Chir Acta* 1989;56:121-4.
220. Faist E, Ertel W, Cohnert T, Huber P, Inthorn D, Heberer G. Immunoprotective effects of cyclooxygenase inhibition in patients with major surgical trauma. *J Trauma* 1990;30:8-17.
221. Riddle PR, Berenbaum MC. Post-operative depression of the lymphocyte response to phytohaemagglutinin. *Lancet* 1967;1:746-8.
222. Park SK, Brody JI, Wallace HA, Blakemore WS. Immunosuppressive effect of surgery. *Lancet* 1971;1:53-5.
223. Cullen BF, van Belle G. Lymphocyte transformation and changes in leukocyte count: effects of anesthesia and operation. *Anesthesiology* 1976;45:522-38.
224. Salo M. Effect of anaesthesia and open-heart surgery on lymphocyte responses to phytohaemagglutinin and concanavalin A. *Acta Anaesthesiol Scand* 1978;22:471-9.
225. Puri B, Brazil J, Reen DJ. Immunosuppressive effects of anesthesia and surgery in the newborn: I. short term effects. *J Pediatr Surg* 1984;19:823-8.
226. Mahler O, Batchelor JR. Phytohaemagglutinin transformation of lymphocytes in burned patients. *Transplantation* 1971;12:409-11.
227. Allen HJ. Frequency distribution analysis of normal lymphocyte response to phytohaemagglutinin. *Immunol Commun* 1974;3:557-91.
228. Payne J, Hayden P, Meyer HJ, Walls RS. Observed differences in post-operative lymphocyte transformation are explained by patient and population variations. *Am J Surg* 1984;147:237-42.



- 229.Mollitt DL, Marmer DJ, Steele RW. Age-dependent variation of lymphocyte function in the postoperative child. *J Pediatr Surg* 1986;21:633-5.
- 230.Rodrick ML, Wood JJ, O'Mahony JB et al. Mechanisms of immunosuppression associated with severe nonthermal traumatic injuries in man: production of interleukin 1 and 2. *J Clin Immunol* 1986;6:310-8.
- 231.Faist E, Schinkel C, Zimmer S et al. The influence of major trauma on the regulatory levels of interleukin 1 ( IL -1 ) and IL-2 in human mononuclear leukocytes.*Zentralbl Chir* 1993;118:420-31.
- 232.Fong Y, Moldawer LL, Shires GT, Lowry SF. The biologic characteristics of cytokines and their implication in surgical injury. *Surg Gynecol Obstet* 1990;170: 363-78.
- 233.Lowry SF. Cytokine mediators of immunity and inflammation. *Arch Surg* 1993;128: 1235-41.
- 234.Prochazka M, Vyhnánek F, Jirá M, Střeček J. Effect of interleukin 2 on peripheral blood mononuclear cells in severely injured patients. *Acta Chir Scand* 1987;153: 401-4.
- 235.Karu TI, Kolendo GS, Letzokhov VS, Lobko VS, Lobko VV. Biostimulation of HeLa cells by low-intensity visible light. *IINuovo Cimneto D* 1982;1:828-40.
- 236.Bosatra M, Jucci A, Olliaro P, Quacci D, Sacchi S. In vitro fibroblast and dermis fibroblast activation by laser irradiation at low energy. *Dermatologica* 1984;168:157-62.
- 237.Passarella S, Casamassima E, Molinari S, Pastore D, Quagliariello E, Catalano IM. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by He-Ne laser. *FEBS Lett* 1984;175:95-99.
- 238.Marchesini R, Dasdia T, Melloni E, Rocca E. Effect of low-energy laser irradiation on colony formation capability in different human tumor cells in vitro. *Lasers Surg Med* 1989;9:59-62.
- 239.Gross AJ, Jelkmann W. Helium- neon laser irradiation inhibits the growth of kidney epithelial cells in culture. *Lasers Surg Med* 1990;10:40-4.

240. Deckelbaum LI, Scot JJ, Stetz ML, O'Brien KM, Sumpio BE, Madri JA, Bell L. Photoinhibition of smooth muscle cell migration: Potential therapy for restenosis. *Lasers Surg Med* 1993;13:4-11.
241. Karu TI, Ryabykh TP, Fedeseyeva GE, Puchkova NI. Helium- neon laser induced respiratory burst of phagocytic cells. *Lasers Surg Med* 1989;9:585-8.
242. Belkin M, Schwarz M. New biological phenomena associated with laser radiation. *Health Physics* 1989;56:687-90.
243. Kana JS, Hutschenreiter G, Haina D, Waidelich W. Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch Surg* 1981;116:293-6.
244. Lyons FR, Abergel RP, White RA, Dwyer RM, Castel JC, Uitto J. Biostimulation of wound healing in vivo by helium-neon laser. *Ann Plast Surg* 1987;18:47-50.
245. Abergel RP, Lyons FR, Castel JC, Dwyer RM, Uitto J. Biostimulation of wound healing by lasers: experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. *J dermatol Surg Oncol* 1987;3:127-33.
246. Mc Caughan JS, Bethel BH, Johnston T, Janssen W. Effect of low-dose argon irradiation on rate of wound closure. *Lasers Surg Med* 1985;5:607-14.
247. Basford JR, Hallman HO, Sheffield CG, Mackey GL. Comparison of cold-quartz ultraviolet, low-energy laser and occlusion in wound healing in swine model. *Arch Phys Med Rehabil* 1986;67:151-4.
248. Rochkind S, Barr-Nea L, Razon N, Bartal A, Schwartz M. Stimulatory effect of He - Ne low dose laser on injured sciatic nerves of rats. *Neurosurgery* 1987;20:843-7.
249. Schwartz M, Doron H, Erlich M, Lavie V, Ben Bassat J, Belkin M, Rochkind S. Low energy He - Ne laser and the manifestations of post - traumatic degeneration of the rabbit optic nerve. *Lasers Surg Med* 1987;7:51-5.
250. Andress LL, Borke RC, Woolery SK, Van De Merwe WP. Low power laser irradiation alters rate of regeneration of the rat facial nerve. *Lasers Surg Med* 1993;13:72-82.
251. Rochkind S, Lubart R, Nissan M, Barr - Nea L. Low-energy laser irradiation and the nervous system: Method and results. *SPIE Laser Surg Char Ther* 1988;907:100-6.

252. Ascenio - Arana F, Garcia - Fons V, Molina - Andreu E, Vidal - Martinez J, Martinez - Soriano F. Endoscopic enhancement of the healing of high - risk colon anastomoses by low-power helium-neon laser. *Dis Colon Rectum* 1992;35:568-73.
253. David R, Nissan M, Cohen I, Soudry M: Effect of low-power He-Ne laser on fracture healing in rats, *Lasers Surg Med* 1996, 19(4):458-65.
254. Mester E, Korenyi - Both A, Spiry T, Scher A, Tisza S. Stimulation of wound healing by means of laser rays. Clinical and electron microscopical study. *Acta Chir Acad Sci Hung* 1973;14:347-56.
255. Mester E, Bycsy E, Korenyi - Both A, Kovacs I, Spiry T. Klinische elektronoptische und enzym - histochemische Untersuchungen über die Wirkung der Laserstrahlen auf die Wundheilung. *Langenbecks Arch Chir Suppl Forum* 1974;261-5.
256. Ditrichova D, Malinsky J, Buček M, Kolarova H. Application of biostimulative effects of He-Ne laser in the therapy of crural ulcers ultrastructural findings in irradiated tissue. *Acta Univ Palacki Olomuc (Olomouc ) Fac Med* 1988;19:337-46.
257. Porteder H, Strassi H, Stanek G, Vinzenz K. Einsatz des Helium-Neon Lasers zur förderung der Wundheilung. *Österr Z Stomatoll* 1983;80:333-9.
258. Kovacs L, Tisza S. Treatment of ectopium with low-output He-Ne laser. *Neoplasma* 1981;26:351-4.
259. Schindl M, Kerschman K, Schindl A, Schon H, Heinzl H, Schindl L: Induction of complete wound healing in recalcitrant ulcers by low-intensity laser irradiation depends on ulcer cause and size; *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1999 Feb 15(1):18-21.
260. Basford JR. Low energy laser treatment of pain and wounds: hype, hope or hokum? *Mayo Clin Proc* 1986;61:671-5.
261. Basford JR. Low-energy laser therapy: Controversies and new research findings. *Lasers Surg Med* 1989;9:1-5.
262. Walker J. Relief from chronic pain by low power laser irradiation. *Neurosci Lett* 1983;43:339-44.
263. Giaveli S, Fava G, Castruovo G, Spinoglio L, Galanti A: Low-level laser therapy in osteoarticular diseases in geriatric patients, *Radiol Med Torino*, 1998; 95(4): 303-9.

264. Palmieri B, Matera G, Turci R. Infrared laser use in surgical department: Pain control. In: Galletti G, ed: Laser: International congress on laser in medicine and surgery. Abstracts book. Bologna: Monduzzi Editore, 1985:306.
265. Zakharov PI, Pilevina LV, Builin VA, Elisenko VI, Kolosov MD: Low-intensity lasers in the treatment of peptic gastric and duodenal ulcers. *J Clin Laser Med Surg* 1991; Aug; 9(4):251-7.
266. Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees DG. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds and burns. *Lasers Surg Med* 1989;9:174-82.
267. Žarković N, Manev H, Petričić D, Skala K, Jurin M, Peršin A, Kubović M. Effect of semiconductor GaAs laser irradiation on pain perception in mice. *Lasers Surg Med* 1989;9:63-6.
268. Drizhak VI, Dombrovich MI, Galaichuk II: Use of low-energy laser irradiation in patients with colorectal cancer after surgery; *Klin Khir* 1997;1:33-5.
269. Williams LL, Shannon BT, Chambers RB, Leguire LE, Davidorf FH: Systemic immunostimulation after retinal laser treatment in retinitis pigmentosa, *Clin Immunol Immunopathol* 1992, 64(1):78-8.
270. Petrek M, Hubacek J, Ordeltova M: Immunomodulatory effects of laser therapy in the treatment of chronic tonsillitis, *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med*, 1991,129:119-26.
271. Waidelich W. Laser Physics-Mechanisms of biological effects. In: Hofstetter AG, ed. *Lasers in Urological Surgery*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 1997:22-23.
272. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Koninckx PR: CO<sub>2</sub>-laser excision of endometriosis does not improve the decreased natural killer activity. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994;73(4):333-7.
273. Liu Q, Tan S, Liu T: The primary observation of effect on immune function of human body by YAG laser tonsillocoagulation. *Chung Hua Erh Pi Yen Hou Ko Tsa Chih* 1994;29(3):170-2.
274. Preobrazhenskii VN, Ostapenko IL, Bazhanov VL, Kiselev SD, Ermakova TI, Preobrazhenskaia GS: High-intensity laser irradiation in the treatment of patients with non-healing stomach ulcer. *Klin Med (Mosk)* 1991 Aug;69(8):73-5.

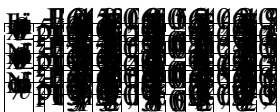
275. Waidelich W. Laser Physics-Interaction of laser energy with biological tissue. In: Hofstetter AG, ed. Lasers in Urological Surgery. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 1997:19-25.
276. McMahon AJ, ONDwyer PJ, Cruickshank AM et al. Comparison of metabolic responses to laparoscopic and minilaparotomy cholecystectomy. *Br J Surg* 1993;80:1255-58.
277. Van Iperen CE, Kraaijenhagen RJ, Biesma DH, Beguins Y, Marx JJM, van de Wiel A. Iron metabolism and erythropoiesis after surgery. *Br J Surg* 1998;85:41-5.
278. Fitzsimons EJ, Brock JH. The anemia of chronic disease (editorials) *BMJ* 2001;322:811-2.
279. Joris J, Cigarini I, Legrand M, Jacquet N, De Groote D, Franchimont P, Lamy: Metabolic and respiratory changes after cholecystectomy performed via laparotomy or laparoscopy. *Br J Anaesth* 1992;69:341-5.
280. Targarona EM, Pons MJ, Balague C et al. Acute phase is the only significantly reduced component of the injury response after laparoscopic cholecystectomy. *World J Surg* 1996;20:528-34.
281. Takahara T, Uyama I, Ogiwara H, Furuta T, Iida S. Inflammatory responses in open versus laparoscopic herniorrhaphy. *J Laparoendosc Surg* 1995;5:317-26.
282. Uzunkoy A, Coskun A, Akinci OF, Kocyigit A. Systemic stress responses after laparoscopic or open hernia repair. *Eur J Surg* 2000;166:467-71.
283. Ellstrom M, Bengtsson A, Tylman M, Haeger M, Olsson JH, Hahlin M. Evaluation of tissue trauma after laparoscopic and abdominal hysterectomy: measurements of neutrophils activation and release of interleukin-6, cortisol and C-reactive protein. *J Am Coll Surg* 1996;182:423-30.
284. Yuen PM, Mak TWL, Yim SF et al. Metabolic and inflammatory responses after laparoscopic and abdominal hysterectomy. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1-5.
285. Kloosterman T, von Bloemberg BM, Borgstein P, Cuesta M, Scheper RJ, Meijer S. Unimpaired immune functions after laparoscopic cholecystectomy. *Surgery* 1994;115:424-8.
286. Demirer S, Karadayi K, Simsek S, Erverdi N, Bumin C. Comparison of postoperative acute phase reactants in patients who underwent laparoscopic v. open

- cholecystectomy: a randomized study. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2000;10:249-52.
287. Karayiannakis AJ, Makri GG, Mantzioka A, Karousos D, Karatzas G. Systemic stress response after laparoscopic or open cholecystectomy: a randomized trial. *Br J Surg* 1997;84:467-71.
288. Dionigi R, Dominioni L, Benevento A et al. Effects of surgical trauma of laparoscopic vs. open cholecystectomy. *Hepato Gastroenterol* 1994;41:471-6.
289. Glaser F, Sannwald GA, Buhr HJ, Kuntz C, Mayer H, Klee F, Herfarth C. General stress response to conventional and laparoscopic cholecystectomy. *Ann Surg* 1995;221:372-80.
290. Ohzato H, Yoshizaki K, Nishimoto N et al. Interleukin 6 as a new indicator of inflammatory status: detection of serum levels of interleukin-6 and C reactive protein after surgery. *Surgery* 1992;111:201-9.
291. Bruce DF, Smith M, Walker CBJ et al. Minimal access surgery for cholelithiasis induces an attenuated acute phase response. *Am J Surg* 1999;178:232-4.
292. Berggren U, Gordth T, Grama D, Haglund U, Rastad J, Arvidsson D. Laparoscopic versus open cholecystectomy: hospitalization, sick leave, analgesia and trauma responses. *Br J Surg* 1994;81:1362-5.
293. Schwartz M, Kipnis J. Autoimmunity on alert: naturally occurring regulatory CD4+CD25+ T cells as part of the evolutionary compromise between a "need" and a "risk". *Trends Immunol* 2002;23(11):530-4.
294. Sheehan C. *Clinical Immunology, Principles and Laboratory Diagnosis*. 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia/New York: Lippincott-Raven Publishers, 1997.

## ŽIVOTOPIS

Rođen sam 13.siječnja 1958. u Podgorici. Osnovnu školu završio sam u Karlovcu, a gimnaziju u Zagrebu. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 1976. Diplomirao sam 1981.Od 1983. do 1987. radim kao liječnik u primarnoj zdravstvenoj zaštiti u Zagrebu. Od početka 1988. nalazim se na specijalizaciji u tadašnjoj Vojnoj bolnici u Zagrebu. Specijalistički ispit iz urologije položio sam u rujnu 1991. na Vojno medicinskoj akademiji u Beogradu. Od tada radim na Odjelu za urologiju KB»Dubrava«. Dvogodišnji postdiplomski studij iz urologije na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu završio sam 1990. Magistarski rad s naslovom «Uzroci i učestalost adenomitisa u prostatektomiranih bolesnika» obranio sam 1992. Tijekom stručnog usavršavanja, kao liječnik specijalist, boravio sam u urološkim klinikama u Sloveniji, Švicarskoj, Austriji i Njemačkoj.

Član sam Hrvatskog udruženja urologa te Europskog udruženja urologa.



**Tablica 2. HEMATOLOŠKI POKAZATELJI KOD BOLESNIKA S ADENOMOM PROSTATE PRIJE I NAKON ZAHVATA**

**U SKUPINAMA ELAP I TURP**

Parametar	N	Zahvat	Prije op	Nakon op	p <sup>1</sup>	1.dan	p <sup>2</sup>	6.dan	p <sup>3</sup>	21.dan	p <sup>4</sup>
SE mm/h	24	ELAP	12,8±9,7 <sup>a</sup> 3 - 37 <sup>b</sup>	13±10,8 3 - 40	0,858	14,1±10,1 5 - 43	0,240	18,1±10,1 8 - 42	<b>0,011</b>	17,2±13,4 2 - 54	<b>0,035</b>
	p <sup>5</sup>		0,953	0,896	0,843		0,450		0,617		
	24	TURP	12,5±7,6 6 - 24	13,7±8,6 6 - 28	0,537	13,2±6,1 8 - 22	0,516	22,7±15,2 7 - 46	<b>0,031</b>	20,5±12 7 - 46	<b>0,041</b>



Limfociti x 10 <sup>9</sup> /L	24	ELAP	2,05±0,71 1,16-3,52	1,51±0,46 0,83-2,32	<b>0,004</b>	1,81±0,48 1,07-2,47	<b>0,015</b>	2,09±0,63 1,25-3,11	0,254	2,03±0,55 1,10-2,95	0,865
	p <sup>5</sup>		0,572	0,940		0,406		0,169		0,376	
	24	TURP	1,84±0,40 1,09-2,69	1,54±0,69 3,57-2,70	0,088	1,69±0,48 1,00-2,97	0,196	1,85±0,51 1,06-2,65	0,887	1,92±0,63 1,01-3,74	0,115
Limfociti %	24	ELAP	32,4±6,4 24-47	28,9±5,1 21-38	0,124	26,3±6,1 15-36	<b>0,001</b>	31,8±8,3 18-47	0,979	32,1±5,7 25-51	0,909
	p <sup>5</sup>		0,374	0,559		<b>0,009</b>		0,317		0,113	
	24	TURP	30,8±9,3 18-58	26,6±11,5 7-50	<b>0,021</b>	20,0±5,4 14-32	<b>0,001</b>	29,1±8,6 16-47	0,442	28,2±6,8 18-40	0,468
Monociti x 10 <sup>9</sup> /L	24	ELAP	0,33±0,17 0,94-0,72	0,19±0,12 0,51-0,52	< <b>0,001</b>	0,32±0,14 0,38-0,54	0,876	0,31±0,15 0,11-0,57	0,629	0,36±0,16 0,17-0,70	0,363
	p <sup>5</sup>		0,113	< <b>0,001</b>		<b>0,001</b>		<b>0,022</b>		0,083	
	24	TURP	0,45±0,18 0,18-0,80	0,38±0,12 0,20-0,65	0,074	0,60±0,26 0,76-1,23	<b>0,008</b>	0,48±0,21 0,11-1,00	0,320	0,49±0,22 0,25-1,17	0,501
Monociti %	24	ELAP	5,2±1,9 2,0-8,9	3,8±1,7 1,2-7,1	<b>0,001</b>	4,7±2,3 0,5-9,0	0,605	4,7±2,0 1,7-7,9	0,679	5,8±1,8 3,0-8,9	0,288
	p <sup>5</sup>		<b>0,012</b>	< <b>0,001</b>		<b>0,008</b>		<b>0,004</b>		0,308	
	24	TURP	7,2±2,1 4,2-11,5	6,6±1,4 4,6-9,1	0,131	7,1±2,6 1,0-13,0	0,649	7,0±2,0 1,7-9,6	0,887	7,3±3,2 3,7-18,0	0,513
Eritrociti x 10 <sup>12</sup> /L	24	ELAP	4,83±0,38 4,30-5,82	4,46±0,24 4,20-4,93	<b>0,001</b>	4,63±0,27 4,20-5,02	0,115	4,59±0,39 4,03-5,39	< <b>0,001</b>	4,47±0,41 4,03-5,39	<b>0,001</b>
	p <sup>5</sup>		0,576	0,615		0,173		0,295		0,747	
	24	TURP	4,96±0,59 4,42-6,12	4,60±0,90 4,04-6,40	<b>0,047</b>	4,38±0,65 3,81-5,65	<b>0,014</b>	4,32±0,69 3,76-5,63	<b>0,013</b>	4,55±0,65 3,85-5,75	<b>0,046</b>
Hemoglobin g/L	24	ELAP	147±10 133-167	135±9 120-150	<b>0,002</b>	145±10 129-162	0,511	142±9 127-158	<b>0,023</b>	139±9 128-155	<b>0,002</b>
	p <sup>5</sup>		0,556	0,662		<b>0,001</b>		<b>0,006</b>		0,093	
	24	TURP	143±12 122-156	139±26 122-182	0,659	126±9 114-141	<b>0,029</b>	126±11 121-150	<b>0,029</b>	130±11 117-145	<b>0,046</b>

Hematokrit L/L	24	ELAP	0,43±0,02 0,39-0,49	0,40±0,02 0,36-0,44	<b>0,001</b>	0,42±0,02 0,38-0,48	0,132	0,41±0,03 0,36-0,46	<b>0,006</b>	0,37±0,03 0,35-0,47	0,090
	p <sup>5</sup>		0,119	0,762		<b>0,002</b>		<b>0,004</b>		0,848	
	24	TURP	0,45 ±0,03 0,38-0,49	0,39 ±0,04 0,33-0,46	<b>0,008</b>	0,37,2±0,02 0,33-0,41	<b>0,006</b>	0,36 ±0,03 0,34-0,43	<b>0,006</b>	0,38 ±0,03 0,35-0,43	<b>0,007</b>
Trombociti x 10 <sup>9</sup> /L	24	ELAP	230±48 170-326	201±46 127-279	<b>0,002</b>	204±41 142-265	<b>0,001</b>	222±45 154-294	0,387	233±66 129-337	0,755
	p <sup>5</sup>		0,052	0,555		<b>0,047</b>		0,858		0,567	
	24	TURP	184±31 137-231	189±12 172-204	0,761	166±13 151-183	0,172	218±47 169-299	0,065	251±39 180-228	<b>0,011</b>

<sup>a</sup> rezultati prikazuju srednju vrijednost ± standardnu devijaciju

<sup>b</sup> raspon vrijednosti

p<sup>1</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti neposredno nakon zahvata

p<sup>2</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 24 sata nakon zahvata

p<sup>3</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 6 dana nakon zahvata

p<sup>4</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 21 dan nakon zahvata

p<sup>5</sup> razlika među skupinama u pojedinom mjerenju

**Tablica 3 . BIOKEMIJSKI POKAZATELJI KOD BOLESNIKA S ADENOMOM PROSTATE PRIJE I NAKON ZAHVATA**

**U SKUPINAMA ELAP I TURP**

Parametar	N	Zahvat	Prije op.	Nakon op.	p <sup>1</sup>	1.dan	p <sup>2</sup>	6.dan	p <sup>3</sup>	21.dan	p <sup>4</sup>
Kreatinin μmol/L	24	ELAP	88±13,1 <sup>a</sup> 68-116 <sup>b</sup>	83,6±10,8 68-104	0,827	87,3±10,7 65-105	0,943	89,3±15,4 57-108	0,822	87,4±12,7 70-112	0,902
	p <sup>5</sup>		0,443	0,729		0,451		0,631		0,687	
	24	TURP	83±9,6 70-106	82±6,2 74-89	0,921	82,6±15,3 70-103	0,945	95,5±15,9 78-123	0,232	90,6±21,6 72-115	0,456
Urea mmol/L	24	ELAP	7,9±2,5 4,6-11,3	7,7±2,5 4,5-11,1	0,824	6,7±1,7 3,7-9,9	0,312	7,4±1,7 4,3-11,1	0,545	6,8±1,3 5,3-10,4	0,292
	p <sup>5</sup>		0,065	0,142		0,803		0,329		0,891	
	24	TURP	5,8±1,1 5-7,9	6,1±0,9 4,7-7,2	0,813	6,5±1,1 4,7-7,8	0,432	6,4±2,2 3,8-9,9	0,454	6,6±2,3 3,6-9,8	0,318
AST U/L	24	ELAP	16,7±2,9 13-22	16,1±5,2 11-29	0,822	22,9±16,8 14-78	0,124	16,2±5,2 11-29	0,756	15,3±2,9 11-21	0,462
	p <sup>5</sup>		0,444	0,456		0,622		0,716		0,052	
	24	TURP	18±3,7 15-25	17,8±1,6 16-20	0,955	19,3±5,5 15-30	0,612	17,1±4,9 11-25	0,576	19,1±4,1 15-27	0,722
ALT U/L	24	ELAP	19,5±5,1 9-28	17,5±3,8 11-25	0,445	24,5±23,2 10-101	0,198	19,9±8,8 8-39	0,923	20,3±10,1 8-51	0,836
	p <sup>5</sup>		0,884	0,413		0,348		0,509		0,508	
	24	TURP	19,1±5 12-26	16±3,2 11-19	0,212	15,1±4,2 10-22	0,118	17,1±6,7 11-30	0,399	23,3±5,5 17-31	0,101
GGT U/L	24	ELAP	20,2±7,9 12-37	16,3±7,5 9-33	0,112	25,9±24,9 13-105	0,087	21,6±9,8 12-50	0,213	20±7,9 10-40	0,923
	p <sup>5</sup>		0,126	0,299		0,687		0,764		0,341	

	24	TURP	30,3 $\pm$ 30 15-56	21,1 $\pm$ 11,8 13-45	0,058	21,5 $\pm$ 11,6 15-45	0,060	25,6 $\pm$ 17,1 16-60	0,122	24,1 $\pm$ 9,9 16-44	0,109
ALP U/L	24	ELAP	49,3 $\pm$ 16,7 24-83	42 $\pm$ 14,2 20-76	0,422	50 $\pm$ 19,9 30-97	0,944	51,3 $\pm$ 13,6 32-82	0,766	58,5 $\pm$ 10,1 28-92	0,322
	p <sup>5</sup>		0,403	0,924		0,338		0,585		0,454	
	24	TURP	42,6 $\pm$ 13 29-64	42,6 $\pm$ 13 24-62	0,982	41,1 $\pm$ 12,8 25-63	0,892	47,6 $\pm$ 10,2 31-69	0,542	46,1 $\pm$ 20,7 18-78	0,521
CPK U/L	24	ELAP	77 $\pm$ 34 22-168	100 $\pm$ 5,1 27-205	<b>0,004</b>	231 $\pm$ 133 114-592	<b>0,001</b>	71 $\pm$ 34 27-140	0,483	75,3 $\pm$ 29,3 39-117	0,801
	p <sup>5</sup>		0,228	0,264		0,407		0,347		0,335	
	24	TURP	58 $\pm$ 17 35-83	76 $\pm$ 8,6 62-87	<b>0,046</b>	176 $\pm$ 127 103-436	<b>0,006</b>	55 $\pm$ 28 25-94	0,778	61,1 $\pm$ 28,4 26-94	0,828
GUK mmol/L	24	ELAP	5,5 $\pm$ 1,3 4-7,8	7,3 $\pm$ 2,4 4,5-12,9	0,071	5,1 $\pm$ 0,9 3,9-7,2	0,775	5,4 $\pm$ 1,0 3,8-7	0,912	5,4 $\pm$ 1,1 4,5-9	0,923
	p <sup>5</sup>		0,130	0,057		0,540		0,159		0,447	
	24	TURP	4,8 $\pm$ 0,4 4,5-5,6	5,2 $\pm$ 0,7 4,7-6,6	0,844	4,8 $\pm$ 0,9 3,5-6,1	0,965	4,9 $\pm$ 0,9 3,9-6,3	0,941	5 $\pm$ 0,4 4,4-5,5	0,901

<sup>a</sup> rezultati prikazuju srednju vrijednost  $\pm$  standardnu devijaciju

<sup>b</sup> raspon vrijednosti

p<sup>1</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti neposredno nakon zahvata

p<sup>2</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 24 sata nakon zahvata

p<sup>3</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 6 dana nakon zahvata

p<sup>4</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 21 dan nakon zahvata

p<sup>5</sup> razlika među skupinama u pojedinom mjerenju

**Tablica 4: ENDOKRINOLOŠKI POKAZATELJI KOD BOLESNIKA S ADENOMOM PROSTATE PRIJE I NAKON ZAHVATA U SKUPINAMA ELAP I TURP**

Parametar	N	Zahvat	Prije op	Nakon op	p <sup>1</sup>	1.dan	p <sup>2</sup>	6.dan	p <sup>3</sup>	21.dan	p <sup>4</sup>
T3 nmol/L	24	ELAP	1,94±0,27 <sup>a</sup> 1,4-2,4 <sup>b</sup>	1,6±0,24 1,2-2,0	<b>0,001</b>	2,7±0,98 1,2-3,5	<b>&lt;0,001</b>	1,84±0,28 1,49-2,4	0,330	1,87±0,3 1,5-2,5	0,374
	p <sup>5</sup>		0,547	0,709		<b>0,005</b>		0,912		0,498	
	24	TURP	1,84±0,39 1,4-2,5	1,55±0,34 1,1-1,9	<b>0,050</b>	1,2±0,23 0,9-1,62	<b>0,013</b>	1,86±0,26 1,5-2,29	0,913	1,97±0,12 1,8-2,11	0,469
T4 nmol/L	24	ELAP	106,4±14,9 85-129	96,3±20,2 70-125	<b>0,004</b>	98,7±19,2 69-126	0,062	109,3±18,8 75-132	0,460	103±18,3 74-128	0,259
	p <sup>5</sup>		0,915	0,714		0,164		0,726		0,376	
	24	TURP	105,3±31,6 78-155	100,8±31,7 65-138	0,623	86,1±12,6 75-104	<b>0,043</b>	113±24,2 90-153	0,112	104,8±32,6 75-162	0,914
TSH mU/L	24	ELAP	1,54±1,25 0,28-4,8	1,05±0,81 0,22-3	<b>0,009</b>	1,26±1,43 0,2-5,7	0,135	1,48±1,06 0,56-4,6	0,654	1,72±1,68 0,6-7	0,464
	p <sup>5</sup>		0,822	0,961		0,860		0,758		0,736	
	24	TURP	1,41±1,19 0,5-3,8	1,07±0,93 0,3-2,9	<b>0,035</b>	1,14±1,08 0,2-3,2	0,069	1,64±0,95 0,6-3,3	0,255	1,45±1,47 0,1-4,2	0,866
Kortizol nmol/L	24	ELAP	527±163 245-721	435±223 221-885	0,234	389±145 139-708	<b>0,008</b>	413±90 297-592	<b>0,009</b>	442±109 202-618	<b>0,023</b>
	p <sup>5</sup>		0,114	0,577		0,457		0,642		0,852	
	24	TURP	425±181 270-784	515±196 277-748	0,181	358±105 261-551	0,479	431±172 205-703	0,937	436±179 255-644	0,935

ACTH pg/ml	24	ELAP	26,5±12 13-51	35,7±44,6 13-152	0,271	23,3±7,2 14-39	0,233	28,3±14,4 15-57	0,737	32,7±13,7 16-57	0,372
	p <sup>5</sup>		0,376	0,191		0,241		0,262		1,000	
	24	TURP	26,6±7,9 17-36	47,6±46,5 13-126	<b>0,042</b>	20,5±4,5 16-29	0,655	34,1±17 15-57	0,865	30,8±14,1 18-55	0,777

<sup>a</sup> rezultati prikazuju srednju vrijednost ± standardnu devijaciju

<sup>b</sup> raspon vrijednosti

p1 razlika između početne vrijednosti i vrijednosti neposredno nakon zahvata

p2 razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 24 sata nakon zahvata

p3 razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 6 dana nakon zahvata

p4 razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 21 dan nakon zahvata

p5 razlika među skupinama u pojedinom mjerenju

**Tablica 5. SERUMSKI PROTEIN I ELEKTROFOREZA PROTEINA KOD BOLESNIKA S ADENOMOM PROSTATE PRIJE I NAKON ZAHVATA U SKUPINAMA ELAP I TURP**

Parametar	N	Zahvat	Prije op	Nakon op	p <sup>1</sup>	1.dan	p <sup>2</sup>	6.dan	p <sup>3</sup>	21.dan	p <sup>4</sup>
Proteini g/L	24	ELAP	76,3±7,5 <sup>a</sup> 64-86 <sup>b</sup>	66,6±4,7 59-73	<b>0,008</b>	69,2±6,2 62-81	<b>0,011</b>	73,8±6,3 63-83	0,155	69,6±10,8 66-84	<b>0,023</b>
	p <sup>5</sup>		0,558	0,534		0,143		0,734		0,554	
	24	TURP	78,5±6,2 70-89	65,1±4,4 58-71	<b>0,006</b>	65,1±1,9 62-67	<b>0,008</b>	72,8±4,7 68-81	0,129	74,6±3,6 71-79	0,331
Albumini g/L	24	ELAP	44,7±5,1 38-55	39,6±6,6 34-60,3	<b>0,002</b>	40,9±6 35,2-56,6	<b>0,001</b>	41,8±4 36-49,1	<b>0,035</b>	41,9±3 37-47	0,064
	p <sup>5</sup>		0,806	0,262		0,119		0,810		0,983	
	24	TURP	44±6,1 36,7-54,6	36,3±2,7 31,9-40	<b>0,035</b>	36,8±1,3 35,6-39,2	<b>0,028</b>	41,3±3,8 34,7-45,3	0,284	41,9±2,6 38-45,3	0,446
α1 globulini %	24	ELAP	2,43±0,4 1,8-3	2,3±0,62 1,2-3,2	0,490	2,29±0,59 1,6-3,6	0,525	2,52±0,35 2-3,3	0,420	2,6±0,4 2,2-3,6	0,268
	p <sup>5</sup>		0,214	0,839		0,630		0,760		0,888	
	24	TURP	2,63±0,13 2,5-2,8	2,36±0,4 1,6-2,8	0,081	2,43±0,48 1,6-3,1	0,378	2,58±0,38 2-3	0,732	2,63±0,23 2,3-3	0,862
α2 globulini %	24	ELAP	6,34±1,2 4,1-8,3	5,6±1,29 3,6-7,4	<b>0,041</b>	5,98±1,19 4-7,76	<b>0,036</b>	6,58±1,18 5-8,7	0,511	6,63±1,19 5-8,8	0,468
	p <sup>5</sup>		0,375	0,885		0,603		0,548		0,844	
	24	TURP	6,8±0,9 5,8-8,2	5,5±1,5 3,9-8,3	<b>0,021</b>	5,6±1,2 4,5-8	<b>0,017</b>	7±2,1 5-11,2	0,792	6,75±1,24 5-8,8	0,844

$\beta$ globulini %	24	ELAP	10,9 $\pm$ 1,9 8,4-14,2	9,8 $\pm$ 2,2 7,7-15,1	<b>0,001</b>	10,1 $\pm$ 1,6 8,2-13,7	<b>0,002</b>	10,3 $\pm$ 2,1 6,5-14,2	0,071	10,4 $\pm$ 1,7 7,9-13,5	0,078
	p <sup>5</sup>		0,792	0,732		0,174		0,737		0,510	
	24	TURP	10,7 $\pm$ 1,1 9,1-11,8	9,46 $\pm$ 0,05 8,7-10,9	<b>0,047</b>	9,1 $\pm$ 0,5 8,5-9,8	<b>0,023</b>	10,6 $\pm$ 1,5 8,2-13	0,823	11 $\pm$ 1,6 8,2-13,4	0,660
$\gamma$ globulini %	24	ELAP	13 $\pm$ 3 8-19,6	11,5 $\pm$ 1,97 8-14,4	<b>0,008</b>	11,8 $\pm$ 2,8 8,8-18,5	<b>0,009</b>	12,3 $\pm$ 3,4 8-20,7	0,536	12,2 $\pm$ 2,8 7,5-16,8	0,092
	p <sup>5</sup>		0,572	0,996		0,544		0,472		0,826	
	24	TURP	13,7 $\pm$ 1,4 12,5-15,8	11,5 $\pm$ 1,62 9,6-13,7	<b>0,001</b>	11 $\pm$ 2 9,1-14,4	<b>0,026</b>	11,2 $\pm$ 1,4 10-13,9	<b>0,040</b>	12,4 $\pm$ 1,69 10-15	0,139

<sup>a</sup> rezultati prikazuju srednju vrijednost  $\pm$  standardnu devijaciju

<sup>b</sup> raspon vrijednosti

p<sup>1</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti neposredno nakon zahvata

p<sup>2</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 24 sata nakon zahvata

p<sup>3</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 6 dana nakon zahvata

p<sup>4</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 21 dan nakon zahvata

p<sup>5</sup> razlika među skupinama u pojedinom mjerenju



**Tablica 6. IMUNOGLOBULINI, C3, C4 I CRP KOD BOLESNIKA S ADENOMOM PROSTATE PRIJE I NAKON ZAHVATA**

**U SKUPINAMA ELAP I TURP**

Parametar	N	Zahvat	Prije op	Nakon op	p <sup>1</sup>	1.dan	p <sup>2</sup>	6.dan	p <sup>3</sup>	21.dan	p <sup>4</sup>
IgA g/L	24	ELAP	3,31±1,67 <sup>a</sup> 0,71-6,21 <sup>b</sup>	2,97±1,25 1,82-5,4	0,158	3,27±1,27 1,71-5,14	0,907	3,15±1,5 1,72-5,6	0,288	3,32±1,52 1,64-6,12	0,974
	p <sup>5</sup>		0,116	0,162		0,421		0,129		0,149	
	24	TURP	4,54±0,99 3,55-5,88	3,88±1,27 1,63-4,97	0,088	3,77±1,1 1,74-4,68	0,057	4,26±1,14 2,09-5,19	0,455	4,42±1,35 2,04-5,95	0,750
IgG g/L	24	ELAP	14,59±4,24 8,94-22,2	13,76±3,98 8,14-21,3	0,477	13,11±3,52 8,18-20,4	<b>0,004</b>	13,59±3,73 8,79-22,8	<b>0,044</b>	13,91±3,34 9,44-20,4	0,080
	p <sup>5</sup>		0,420	0,315		0,303		0,369		0,632	
	24	TURP	13,01±2,8 10-17	11,83±3,22 7,99-16,7	<b>0,036</b>	11,35±2,9 8,32-15,7	<b>0,041</b>	12,02±2,58 8,91-16	<b>0,043</b>	13,14±2,86 9,14-16,8	0,708
IgM g/L	24	ELAP	1,54±1,01 0,47-4,63	1,23±0,5 0,43-2,39	0,202	1,18±0,59 0,39-2,35	0,120	1,35±0,63 0,43-2,94	0,171	1,49±0,97 0,47-4,38	0,436
	p <sup>5</sup>		0,679	0,104		0,225		0,185		0,395	
	24	TURP	1,73±0,72 1,27-3,12	1,69±0,62 1,16-2,8	0,814	1,54±0,57 0,98-2,3	0,453	1,77±0,6 1,12-2,63	0,862	1,88±0,67 1,31-2,99	0,483
C3 g/L	24	ELAP	1,13±0,32 0,71-1,88	1,03±0,33 0,68-1,87	<b>0,034</b>	1,08±0,28 0,7-1,6	0,352	1,18±0,34 0,69-1,9	0,856	1,17±0,34 0,74-1,9	0,776
	p <sup>5</sup>		0,710	0,429		0,377		0,609		0,926	
	24	TURP	1,2±0,55 0,5-1,92	1,02±0,42 0,52-1,69	<b>0,005</b>	1,09±0,53 0,53-1,89	<b>0,007</b>	1,43±0,75 0,7-2,66	<b>0,012</b>	1,25±0,49 0,59-1,76	0,528

C4 g/L	24	ELAP	0,41±0,13 0,2-0,67	0,35±0,12 0,19-0,59	<b>0,001</b>	0,39±0,11 0,25-0,55	0,495	0,46±0,15 0,23-0,69	0,325	0,42±0,12 0,21-0,65	0,609
	p <sup>5</sup>		0,137	0,329		0,100		0,305		0,244	
	24	TURP	0,35±0,09 0,22-0,5	0,31±0,03 0,28-0,37	<b>0,008</b>	0,31±0,07 0,22-0,42	<b>0,012</b>	0,43±0,11 0,31-0,57	<b>0,005</b>	0,39±0,08 0,28-0,49	<b>0,012</b>
CRP mg/L	24	ELAP	0±0 0-0	0,38±1,5 0-6	0,317	0,75±3 0-12	0,317	0,75±2,05 0-6	0,157	0,46±1,66 0-6	1,000
	p <sup>5</sup>		1,000	0,835		<b>&lt;0,001</b>		<b>0,009</b>		1,000	
	24	TURP	0±0 0-0	0,5±1,73 0-6	0,317	12,5±9,7 0-24	<b>0,007</b>	4,5±4,5 0-12	<b>0,014</b>	0±0 0-0	1,000

<sup>a</sup> rezultati prikazuju srednju vrijednost ± standardnu devijaciju

<sup>b</sup> raspon vrijednosti

p<sup>1</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti neposredno nakon zahvata

p<sup>2</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 24 sata nakon zahvata

p<sup>3</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 6 dana nakon zahvata

p<sup>4</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 21 dan nakon zahvata

p<sup>5</sup> razlika među skupinama u pojedinom mjerenju

**Tablica 7. IMUNOFENOTIPIZACIJA LIMFOCITA PERIFERNE KRVI KOD BOLESNIKA S ADENOMOM PROSTATE PRIJE I NAKON ZAHVATA U SKUPINAMA ELAP I TURP**

Parametar	N	Zahvat	Prije op.	Nakon op.	P <sup>1</sup>	1.dan	P <sup>2</sup>	6.dan	P <sup>3</sup>	21.dan	P <sup>4</sup>
CD3 x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	1440±525 777-2619	1088±283 638-1558	<b>0,010</b>	1308±401 700-1905	0,201	1481±544 760-2214	0,620	1400±515 692-2258	0,752
	P <sup>5</sup>		0,178	0,703		0,265		0,208		0,541	
	16	TURP	1235±275 697-1719	1038±425 182-1619	<b>0,021</b>	1151±381 597-1990	0,239	1258±430 669-1867	0,717	1288±509 675-2618	0,603
CD3 %	16	ELAP	71,8±8,8 60-88	72,0±10,1 51-84	0,955	70,1±6,2 62-82	0,527	69,2±7,3 58-81	0,338	70,2±9,1 53-86	0,544
	P <sup>5</sup>		0,116	0,258		0,579		0,337		0,300	
	16	TURP	67,1±7,5 57-83	67,9±9,8 45-82	0,690	68,5±9,2 47-80	0,552	66,1±10,5 43-80	0,572	66,8±9,3 47-78	0,865
CD4 x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	830±265 453-1196	772±267 413-1302	<b>0,049</b>	829±282 402-1153	0,426	944±422 356-1819	0,069	821±333 372-1487	0,621
	P <sup>5</sup>		0,850	0,706		0,546		0,474		0,763	
	16	TURP	806±180 447-1190	737±315 114-1277	0,234	761±201 469-1217	0,326	820±284 486-1385	0,918	742±244 420-1309	0,339
CD4 %	16	ELAP	43,3±12,5 20-59	51,2±12,3 25-64	<b>0,010</b>	44,9±11,8 23-62	0,191	44,0±11,3 26-60	0,280	42,5±11,5 23-61	0,816
	P <sup>5</sup>		0,888	0,282		0,970		0,748		0,940	
	16	TURP	44,0±7,3 36-60	48,1±9,7 32-67	0,074	46,3±7,1 38-61	0,393	43,7±9,4 23-58	0,909	41,7±7,6 29-57	0,163

CD8 x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	727±394 295-1786	442±298 145-1461	<b>0,005</b>	601±302 236-1485	<b>0,026</b>	638±227 393-1162	0,098	645±323 201-1459	0,277
	P <sup>5</sup>		0,763	0,734		0,572		0,598		0,895	
	16	TURP	643±213 348-1156	465±275 82-1120	<b>0,023</b>	546±261 199-1188	<b>0,034</b>	604±233 298-1113	0,255	641±329 185-1683	0,918
CD8 %	16	ELAP	34,4±13,5 18-67	28,7±11,8 16-63	<b>0,004</b>	32,6±11,5 13-60	0,126	31,8±9,6 17-55	0,221	33,3±11,6 11-54	0,442
	P <sup>5</sup>		0,375	0,571		0,820		0,955		0,894	
	16	TURP	34,5±6,8 21-46	29,6±9,3 13-53	<b>0,041</b>	31,7±7,2 20-51	0,066	31,5±6,1 20-42	0,059	33,4±8,9 16-52	0,347
CD3+ CD4+ x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	630±258 430-962	662±205 521-928	0,270	706±142 384-1140	0,124	798±480 321-1380	0,141	712±455 330-1320	0,191
	P <sup>5</sup>		0,188	0,792		0,429		0,930		0,539	
	16	TURP	802±194 436-1170	681±327 114-1252	<b>0,039</b>	752±203 432-1188	0,345	790±289 464-1365	0,917	800±247 422-1309	0,753
CD3+ CD4+ %	16	ELAP	38,4±9,9 28-50	44,3±18,0 23-63	0,139	45,3±13,4 31-61	<b>0,026</b>	40,6±15,3 25-59	0,459	40,0±15,9 26-60	0,914
	P <sup>5</sup>		0,334	0,930		0,860		0,791		0,291	
	16	TURP	43,1±8,4 30-60	45,4±10,2 28-62	0,344	45,0±8,2 34-61	0,582	42,3±9,3 26-56	0,637	41,6±7,2 34-56	0,409
CD3+ CD8+ x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	475±144 378-661	317±94 315-620	<b>0,009</b>	408±70 336-492	0,113	490±22 461-506	0,916	444±42 390-480	0,892
	P <sup>5</sup>		0,539	0,398		0,522		0,792		0,661	
	16	TURP	437±185 212-807	327±166 82-660	<b>0,016</b>	413±247 140-919	0,264	442±220 149-874	0,507	522±390 124-1683	0,133
CD3+ CD8+ %	16	ELAP	30,3±11,0 20-44	27,3±9,4 21-42	<b>0,026</b>	29,0±9,8 18-40	0,434	29,0±8,5 20-39	0,458	28,0±7,9 21-38	0,113
	P <sup>5</sup>		0,217	0,231		0,253		0,159		0,659	
	16	TURP	28,1±7,7 13-36	24,7±8,0 12-43	<b>0,029</b>	27,3±9,0 11-45	0,893	26,7±7,8 9-34	0,621	27,1±10,7 11-45	0,325

CD4/CD8	16	ELAP	1,49±0,79 0,65-2,5	1,63±1,03 0,56-2,95	0,066	1,89±1,14 0,78-3,39	<b>0,003</b>	1,66±1,02 0,64-2,99	<b>0,023</b>	1,58±0,94 0,62-2,8	0,051
	P <sup>5</sup>		0,082	0,123		0,442		0,208		0,301	
	16	TURP	2,17±1,04 0,94-4,1	2,27±0,97 0,66-3,84	0,439	2,21±0,93 0,84-4,1	0,723	2,21±1,07 0,93-4,39	0,739	2,04±1,21 0,78-4,54	0,358
CD3+ CD4+ / CD3+ CD8+	16	ELAP	1,29±0,73 0,39-2,79	2,08±1,06 0,39-4,05	< <b>0,001</b>	1,50±1,04 0,47-4,66	0,348	1,44±0,77 0,49-3,48	0,410	1,31±0,72 0,52-3,19	0,883
	P <sup>5</sup>		0,795	0,598		0,894		0,913		0,846	
	16	TURP	1,35±0,52 0,83-2,85	1,89±0,87 0,66-4,16	<b>0,032</b>	1,54±0,53 0,86-2,92	0,165	1,47±0,55 0,80-2,78	0,278	1,37±0,77 0,69-3,37	0,877
CD19 x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	130±95 16-361	114±66 42-257	0,363	122±60 35-240	0,660	155±107 55-489	0,055	97±54 25-235	0,256
	P <sup>5</sup>		0,906	0,896		0,843		0,313		0,812	
	16	TURP	118±44 54-212	109±58 25-230	0,055	126±45 63-233	0,334	114±49 49-233	0,842	104±61 31-265	0,118
CD19 %	16	ELAP	7,1±4,9 1,4-17,5	8,2±3,4 3,8-14,4	0,088	7,9±3,2 2,9-14,1	0,277	8,3±4,0 3,4-15,7	0,179	6,7±4,4 1,2-16,6	0,495
	P <sup>5</sup>		0,797	0,363		0,819		0,072		0,479	
	16	TURP	6,2±1,9 3,3-10,0	7,1±3,1 1,2-12,1	0,221	7,4±2,4 4,0-12,0	0,198	6,1±2,2 2,3-11,0	0,575	5,5±3,1 1,3-13,0	0,099
CD25 x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	279±156 65-665	211±88 44-413	<b>0,001</b>	469±302 23-1272	<b>0,013</b>	415±329 10-1485	<b>0,020</b>	321±196 62-689	0,070
	P <sup>5</sup>		0,693	0,729		0,114		0,767		0,459	
	16	TURP	291±152 24-591	313±165 42-556	0,301	363±206 40-707	0,424	354±107 140-470	0,365	282±156 80-585	0,286
CD25 %	16	ELAP	15,3±10,9 3-40	16,3±9,0 3-29	0,543	20,9±9,9 1-44	0,172	15,9±11,6 1-51	0,827	16,1±9,8 6-40	0,800
	P <sup>5</sup>		0,721	0,840		0,852		0,616		0,662	
	16	TURP	13,9±8,2 2-30	17,1±8,7 4-34	0,271	20,1±10,6 4-35	0,110	17,9±6,5 7-30	0,194	14,6±7,3 5-28	0,792

CD3+ CD 25+ x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	215±124 50-465	180+75 35-338	0,277	357±308 23-1212	0,147	327±359 10-1422	0,605	257±148 50-666	0,641
	P <sup>5</sup>		0,642	0,051		0,457		0,403		0,402	
	16	TURP	177±102 24-360	250±120 41-383	<b>0,021</b>	239±154 40-438	<b>0,049</b>	279±90 114-403	<b>0,012</b>	193±119 60-331	0,637
CD3+ CD 25+ %	16	ELAP	13,1±11,2 2,0-39,9	13,5±9,0 2,1-30	0,836	17,3±9,8 1,0-44,6	0,179	14,9±13,5 0,8-49,6	0,918	14,3±8,9 4,6-38,0	0,605
	P <sup>5</sup>		0,546	0,826		0,515		0,329		0,515	
	16	TURP	9,5±5,7 1,7-20	11,2±4,0 3,7-15,1	0,307	15,1±9,9 4,0-30,0	<b>0,012</b>	15,3±6,9 6,0-27,3	<b>0,011</b>	11,1±5,7 4,0-18,4	0,307
HLA-DR x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	458±476 166-1226	243±103 152-406	0,122	471±397 211-1113	0,325	377±247 210-776	0,673	342±230 173-703	0,642
	P <sup>5</sup>		0,091	0,069		0,195		<b>0,038</b>		<b>0,032</b>	
	16	TURP	636±297 422-1226	335±58 257-427	<b>0,028</b>	537±208 278-840	0,753	744±23 368-993	0,345	662±424 280-1449	0,917
HLA-DR %	16	ELAP	22,7±15,3 9-46	22,2±10,0 10-36	0,670	26,0±12,4 15-45	<b>0,035</b>	19,2±6,8 11-28	0,946	18,2±4,7 13-25	0,394
	P <sup>5</sup>		0,604	0,686		0,916		<b>0,049</b>		<b>0,037</b>	
	16	TURP	23,6±7,4 17-35	20,1±7,1 13-32	0,141	24,0±7,1 14-32	0,917	29,0±8,5 15-37	<b>0,048</b>	27,8±8,6 16-41	<b>0,046</b>
CD3+ HLA-DR x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	323±267 73-986	190±72 65-338	<b>0,008</b>	280±189 76-816	0,365	316±209 90-832	0,918	302±256 46-1124	0,534
	P <sup>5</sup>		0,642	0,209		0,094		0,114		0,077	
	16	TURP	261±153 110-487	241±114 88-388	0,637	210±152 77-520	0,479	217±162 87-484	0,875	236±252 47-763	0,116
CD3+ HLA-DR %	16	ELAP	15,4±8,4 4,1-37	13,4±6,3 4,2-30,0	0,079	14,2±6,5 4,0-33,0	0,351	14,5±7,6 4,8-31,0	0,733	15,1±8,9 3,5-38,0	0,605
	P <sup>5</sup>		0,609	0,780		0,515		0,403		0,094	
	16	TURP	15,2±10,4 4,4-34,8	12,6±6,6 3,5-21,8	0,875	13,2±6,7 4,6-24,8	0,694	10,9±6,4 3,6-19,4	0,430	12,1±9,5 4,7-31,8	0,181

CD16 x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	552±372 51-1237	276±173 7-660	<b>0,013</b>	538±356 12-1115	0,878	697±516 30-1583	0,646	497±344 25-1301	0,575
	P <sup>5</sup>		0,858	0,714		0,263		0,103		0,186	
	16	TURP	511±168 137-578	378±268 56-722	0,752	387±193 132-612	0,686	447±278 100-804	0,917	424±272 79-712	0,924
CD16 %	16	ELAP	21,5±11,5 4-38	21,6±12,1 1-42	0,767	24,4±15,4 1-44	0,307	30,4±18,9 1-59	0,236	26,3±14,1 1-44	0,475
	P <sup>5</sup>		0,852	0,810		0,748		0,128		0,451	
	16	TURP	25,1±7,6 10-26	23,6±10,6 5-31	0,172	22,0±11,9 6-40	0,753	23,8±18,6 5-53	0,684	21,8±19,5 3-49	0,917
CD3- CD16+56+ x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	365±223 57-1010	169±164 6-656	<b>0,003</b>	229±102 10-446	<b>0,013</b>	296±119 27-464	0,463	271±117 21-529	0,061
	P <sup>5</sup>		0,509	<b>0,048</b>		0,141		0,227		0,180	
	16	TURP	413±169 137-712	314±305 56-1250	<b>0,039</b>	318±174 108-742	<b>0,018</b>	397±213 100-770	0,532	408±274 56-931	0,910
CD3- CD16+56+ %	16	ELAP	17,1±8,9 4-32	12,0±10,1 1-35	<b>0,010</b>	13,8±6,0 1-22	0,107	16,0±7,6 1-26	0,635	16,1±7,9 1-26	0,650
	P <sup>5</sup>		0,111	0,112		0,145		0,416		0,427	
	16	TURP	21,7±7,5 10-39	17,2±10,4 5-46	<b>0,038</b>	19,1±9,9 6-48	0,107	20,7±11,6 5-47	0,329	20,8±13,5 3-52	0,532
CD3+ CD16+56+ x10 <sup>6</sup> /L	16	ELAP	193±151 3-480	139±121 2-508	0,123	319±268 2-936	<b>0,010</b>	366±349 36-1342	<b>0,026</b>	229±268 4-1192	0,981
	P <sup>5</sup>		0,312	0,796		<b>0,046</b>		<b>0,024</b>		0,126	
	16	TURP	132±110 23-329	117±84 18-248	0,374	187±217 23-633	0,929	144±142 34-484	0,965	133±128 22-452	0,981
CD3+ CD16+56+ %	16	ELAP	9,1±6,0 1-22	9,9±7,1 1-22	0,775	15,9±10,5 1-44	<b>0,010</b>	16,7±12,0 2-50	<b>0,030</b>	11,1±8,1 1-31	0,604
	P <sup>5</sup>		0,422	0,409		0,164		<b>0,043</b>		0,098	
	16	TURP	7,0±5,6 1-18	7,7±6,1 2-23	0,574	10,5±10,1 1-30	0,127	8,3±8,2 1-27	0,677	7,7±7,8 1-29	0,982

<sup>a</sup> rezultati prikazuju srednju vrijednost  $\pm$  standardnu devijaciju

<sup>b</sup> raspon vrijednosti

p<sup>1</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti neposredno nakon zahvata

p<sup>2</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 24 sata nakon zahvata

p<sup>3</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 6 dana nakon zahvata

p<sup>4</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 21 dan nakon zahvata

p<sup>5</sup> razlika među skupinama u pojedinom mjerenju



**Tablica 8 . PROLIFERACIJA LIMFOCITA NA MITOGENIKE *IN VITRO* KOD BOLESNIKA S ADENOMOM PROSTATE**

**PRIJE I NAKON ZAHVATA U SKUPINAMA ELAP I TURP**

Parametar	N	Zahvat	Prije op.	Nakon op.	p <sup>1</sup>	1.dan	p <sup>2</sup>	6.dan	p <sup>3</sup>	21.dan	p <sup>4</sup>
PWM cpm	16	ELAP	6124±3392 <sup>a</sup> 1232-16004 <sup>b</sup>	6844±3829 763-15120	0,277	7268±9262 2061-41135	0,593	16707±20307 3083-63001	<b>0,041</b>	7043±7927 1221-26122	0,311
	p <sup>5</sup>		0,053	<b>0,001</b>		0,357		<b>0,026</b>		0,326	
	16	TURP	4279±5174 399-15711	2484±1581 456-4287	0,673	4644±3747 49-9834	0,325	5854±3569 2650-11454	0,468	12732±17151 2297-53898	<b>0,043</b>
PWM SI	16	ELAP	16,8±15 1-69	20,5±10,5 1-37	0,055	9±9,5 2-41	<b>0,010</b>	9,7±6,1 3-21	<b>0,047</b>	15,1±13,6 3-38	0,677
	p <sup>5</sup>		<b>0,014</b>	<b>0,001</b>		<b>0,042</b>		0,308		0,254	
	16	TURP	6,1±5,7 2-19	4,7±2,8 2-10	0,496	2,9±0,9 1-4	<b>0,023</b>	6,7±3,9 2-11	0,262	6,4±4,5 1-15	0,889
ConA cpm	16	ELAP	4974±2943 2130-15117	5338±4151 639-18441	0,717	10197±14183 722-60938	0,562	15577±18642 2456-59656	<b>0,044</b>	10605±16544 619-52461	0,605
	p <sup>5</sup>		0,557	0,101		0,841		0,139		<b>0,035</b>	
	16	TURP	6069±6412 539-17298	2887±2276 170-5956	0,331	9154±9818 742-27084	<b>0,036</b>	6285±5069 686-13465	0,574	35140±38857 1499-99421	<b>0,009</b>
ConA SI	16	ELAP	14±14 2-65	15±8 1-30	0,311	12,4±14,3 1-61	0,337	11,8±6,6 4-23	0,717	14,9±9,6 2-30	0,678
	p <sup>5</sup>		0,051	<b>0,002</b>		<b>0,049</b>		0,066		0,053	
	16	TURP	7±6 2-21	4,2±2,4 1-8	0,310	4,2±4,4 1-15	0,250	5,7±4,1 1-13	0,624	7,1±4,6 1-15	0,944

PHA cpm	16	ELAP	26145±21122 10058-65694	23566±18611 8406-64567	0,214	26572±32793 9646-145111	0,836	27520±28461 7487-84196	0,679	16656±20061 3047-67112	<b>0,015</b>
	p <sup>5</sup>		<b>0,006</b>	0,057		<b>0,008</b>		<b>0,035</b>		0,916	
	16	TURP	13017±18664 1839-47820	15042±14076 2681-37926	0,878	13332±14493 4282-40608	0,798	12112±11799 3341-33421	0,732	16804±14375 3341-35460	0,574
PHA SI	16	ELAP	53,5±58,1 19-257	49,1±27,5 16-98	0,123	29±33,8 5-144	<b>0,032</b>	28±21,9 7-75	<b>0,038</b>	32±25 8-84	<b>0,040</b>
	p <sup>5</sup>		<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>		<b>0,001</b>		<b>0,008</b>		<b>0,013</b>	
	16	TURP	12,6±18,9 3-59	10,7±5,6 3-20	0,484	6,1±6,4 3-22	0,093	10,2±7,5 4-25	0,496	8,9±6,6 2-22	0,312

<sup>a</sup> rezultati prikazuju srednju vrijednost ± standardnu devijaciju

<sup>b</sup> raspon vrijednosti

p<sup>1</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti neposredno nakon zahvata

p<sup>2</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 24 sata nakon zahvata

p<sup>3</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 6 dana nakon zahvata

p<sup>4</sup> razlika između početne vrijednosti i vrijednosti 21 dan nakon zahvata

p<sup>5</sup> razlika među skupinama u pojedinom mjerenju

**Tablica 9: LASERI 1 i LASERI 2**

Parametar	N	Zahvat	Prije op	Nakon op	1.dan	6.dan	21.dan
Leukociti x 10 <sup>9</sup> /L	12	L 1	5,16±0,66 <sup>a</sup> 4,40-6,20 <sup>b</sup>	4,06±0,38 3,61-4,72	6,69±0,96 5,19-7,61	6,49±1,81 4,50-10,20	6,03±1,40 3,51-8,12
	p		<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,400	0,779	0,360
	12	L 2	7,24±1,30 4,80-9,12	6,30±0,90 5,00-7,34	7,11±0,97 6,02-9,10	6,70±1,08 5,20-8,90	6,72±1,50 3,50-8,12
Neutrofili x 10 <sup>9</sup> /L	12	L 1	3,27±0,26 2,82-3,51	2,71±0,33 2,40-3,38	4,73±0,99 3,37-5,94	4,26±1,45 2,40-7,03	3,70±0,74 2,20-4,86
	p		<b>0,005</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,995	0,762	0,392
	12	L 2	4,32±0,85 3,00-5,46	4,18±0,65 3,20-4,97	4,73±0,95 3,60-6,37	4,07±0,82 3,11-5,25	4,13±1,18 2,10-5,13
Limfociti x 10 <sup>9</sup> /L	12	L 1	1,66±0,51 1,16-2,66	1,18±0,28 0,83-1,520	1,59±0,50 1,07-2,47	1,87±0,54 1,25-2,75	1,88±0,57 1,10-2,75
	p		<b>0,021</b>	<b>0,001</b>	0,076	0,189	0,300
	12	L 2	2,44±0,68 1,50-3,52	1,83±0,36 1,10-2,32	2,02±0,38 1,22-2,45	2,30±0,67 1,28-3,11	2,18±0,53 1,12-2,95
Monociti x 10 <sup>9</sup> /L	12	L 1	0,21±0,10 0,09-0,35	0,13±0,08 0,05-0,25	0,25±0,15 0,03-0,45	0,31±0,13 0,17-0,49	0,34±0,14 0,17-0,49
	p		0,001	0,024	0,487	0,929	0,581
	12	L 2	0,46±0,14 0,28-0,72	0,26±0,12 0,06-0,52	0,34±0,14 0,15-0,54	0,30±0,18 0,11-0,57	0,39±0,18 0,22-0,70
ACTH pg/ml	12	L 1	28,3±12,1 15-45	35,1±47,4 14-152	23,2±8,5 14-39	27,7±13 15-57	32,8±15,7 16-60
	p		0,521	0,806	1,000	0,632	0,784
	12	L 2	24,5±11,5 13-51	29,8±35,5 13-117	23,2±5,2 17-30	24,3±14,5 15-57	30,8±12,6 16-51
Kortizol	12	L 1	601±101 406-721	569±248 268-885	349±123 139-506	453±101 297-592	459±56 367-562

nmol/L	p		0,268	0,098	0,219	0,286	0,846
	12	L 2	510±199 245-698	371±197 221-840	434±140 229-708	408±56 312-483	447±150 202-618
C3 g/L	12	L 1	1,26±0,41 0,76-1,88	1,15±0,47 0,68-1,87	1,12±0,31 0,7-1,5	1,32±0,46 0,69-1,9	1,38±0,38 0,74-1,84
	P		0,392	0,534	0,881	0,341	0,069
	12	L 2	1,11±0,25 0,71-1,5	1,03±0,23 0,69-1,43	1,14±0,23 0,86-1,6	1,13±0,28 0,7-1,55	1,07±0,25 0,78-1,64
C4 g/L	12	L 1	0,43±0,16 0,26-0,67	0,33±0,12 0,22-0,59	0,4±0,11 0,23-0,55	0,5±0,16 0,23-0,69	0,48±0,12 0,26-0,65
	P		0,680	0,523	0,772	0,329	0,077
	12	L 2	0,41±0,11 0,2-0,54	0,37±0,1 0,19-0,52	0,42±0,1 0,22-0,52	0,43±0,13 0,23-0,67	0,37±0,13 0,21-0,5
CRP mg/L	12	L 1	0±0 0-0	0,75±2,1 0-6	0±0 0-0	0,75±2,1 0-6	0±0 0-0
	P		,,,	0,334	0,334	1,000	,,,
	12	L 2	0±0 0-0	0±0 0-0	1,5±4,2 0-12	0,75±2,1 0-6	0±0 0-0
CD4 x10 <sup>6</sup> /L	8	L 1	766±214 498-1050	698±207 522-970	761±296 464-1153	890±357 499-1392	817±300 482-1280
	P		0,349	0,284	0,356	0,624	0,961
	8	L 2	894±308 453-1196	845±313 413-1302	897±268 402-1101	999±499 356-1819	825±385 372-1487
CD8 x10 <sup>6</sup> /L	8	L 1	616±489 295-1786	313±125 145-483	561±382 361-1485	607±252 417-1162	664±351 313-1459
	P		0,275	0,084	0,615	0,593	0,822
	8	L 2	837±255 457-1293	571±371 291-1461	641±213 236-896	670±212 393-1019	626±316 201-1212
CD4/ CD8	8	L 1	1,65±0,96 0,39-2,79	2,5±1,15 1,38-4,05	1,54±0,97 0,47-3,39	1,52±0,74 0,82-2,99	1,35±0,74 0,52-2,8

	P		0,166	0,166	0,879	0,991	0,848
	8	L 2	1,15±0,39 0,54-1,72	1,76±0,83 0,56-3,22	1,63±1,29 0,61-4,66	1,53±0,93 0,64-3,48	1,43±0,84 0,56-3,19
CD19 x10 <sup>6</sup> /L	8	L 1	70±48 16-133	75±33 42-118	101±50 35-154	115±59 55-240	88±37 37-132
	P		<b>0,006</b>	<b>0,014</b>	0,183	0,141	0,536
	8	L 2	191±93 93-361	152±70 75-257	143±66 57-240	195±131 100-489	106±69 25-235
CD25 x10 <sup>6</sup> /L	8	L 1	296±117 195-466	242±39 181-273	403±128 287-569	297±149 96-491	208±128 62-393
	P		0,690	0,176	0,400	0,160	<b>0,016</b>
	8	L 2	263±194 65-665	181±114 44-413	535±412 23-1272	532±422 10-1485	433±193 243-689
CD3+ CD25+ x10 <sup>6</sup> /L	8	L 1	280±121 160-465	206±72 118-338	314±101 191-431	217±239 90-795	204±102 50-409
	P		<b>0,031</b>	0,176	0,591	0,234	0,158
	8	L 2	150±93 50-356	154±73 35-222	401±435 23-1218	436±437 10-1422	310±173 168-666
CD3+ HLA-DR	8	L 1	307±288 73-986	186±87 65-338	287±227 76-816	228±123 90-435	203±98 46-318
	P		0,822	0,829	0,896	0,093	0,123
	8	L 2	339±263 139-951	194±60 80-282	274±158 136-594	404±246 117-832	402±329 125-1124
CD16 x10 <sup>6</sup> /L	8	L 1	482±241 214-800	233±34 208-283	536±211 351-841	529±205 311-808	428±86 326-522
	P		0,654	0,552	0,992	0,434	0,636
	8	L 2	599±456 51-1237	305±225 7-660	539±449 12-1115	809±645 30-1583	542±450 25-1301
CD3- CD16+56+	8	L 1	290±141 83-411	100±91 43-247	252±36 205-297	300±111 168-460	276±40 235-332

x10 <sup>6</sup> /L	P		0,203	0,105	0,397	0,899	0,897
	8	L 2	431±267 57-1010	230±194 6-656	209±136 10-446	293±132 27-464	268±162 21-529
CD3+ CD16+56+ x10 <sup>6</sup> /L	8	L 1	211±168 74-480	131±61 32-173	284±170 113-544	228±77 146-346	152±76 36-226
	P		0,663	0,808	0,628	0,128	0,276
	8	L 2	178±143 3-366	146±161 2-508	350±340 2-936	488±450 36-1342	298±357 4-1192
PWM cpm	8	L 1	4316±2522 1232-7865	5875±4135 763-11452	4969±1889 2628-6923	25538±25361 3083-63001	9107±10599 1759-26122
	P		<b>0,027</b>	0,328	0,338	0,081	0,314
	8	L 2	7932±3289 6220-16004	7813±3489 5099-15120	9567±12968 2061-41135	7876±7888 3590-27096	4980±3549 1221-11825
PWM SI	8	L 1	13,2±6,2 8-22	27,7±8 16-37	6,7±3,9 2-12	11±6,5 5-21	15±13,8 3-34
	P		0,3611	<b>0,002</b>	0,362	0,438	0,972
	8	L 2	20,3±20,4 1-69	13,3±7,5 1-27	11,2±12,9 2-41	8,5±5,9 3-21	15,2±14,4 3-38
ConA cpm	8	L 1	3786±1277 2130-5491	4566±2802 639-7081	6587±4032 2066-11915	22864±24359 3289-59656	15854±22683 619-52461
	P		0,108	0,476	0,325	0,121	0,215
	8	L 2	6162±3702 3954-15117	6110±5264 2782-18441	13806±19622 722-60938	8291±5477 2456-15965	5356±3002 1187-9032
ConA SI	8	L 1	10,2±3,5 8-16	20,2±8,1 9-30	8,5±7 1-19	13,5±6,5 7-21	14,8±12,7 2-30
	P		0,293	<b>0,006</b>	0,293	0,320	0,953
	8	L 2	17,8±19,4 2-65	9,7±4,2 1-15	16,3±18,9 3-61	10,1±6,8 4-23	15,1±5,9 8-25
PHA	8	L 1	28177±23910 10058-65694	23594±16576 8406-47348	20818±11910 9814-35261	33677±31418 7487-82994	23711 ±27119 3047-67122

cpm	P		0,714	0,995	0,502	0,406	0,167
	8	L 2	24114 $\pm$ 19363 11745-60230	23537 $\pm$ 21621 10658-64567	32326 $\pm$ 45682 9646-145111	21363 $\pm$ 25731 8355-84196	9619 $\pm$ 3668 5192-13975
PHA SI	8	L 1	39,2 $\pm$ 18,8 20-67	50,5 $\pm$ 25,5 20-87	22 $\pm$ 14,9 5-44	33,5 $\pm$ 25,8 15-75	33 $\pm$ 33,1 8-84
	P		0,344	0,850	0,422	0,333	0,889
	8	L 2	67,7 $\pm$ 80,2 19-257	47,7 $\pm$ 31,1 16-98	36,1 $\pm$ 45,9 6-144	22,5 $\pm$ 17, 7-60	31,1 $\pm$ 17,3 11-52

L1-laseri manje energije

L2-laseri veće energije

<sup>a</sup> rezultati prikazuju srednju vrijednost  $\pm$  standardnu devijaciju

<sup>b</sup> raspon vrijednosti

p razlika među skupinama u pojedinim mjeranjima