

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Srdan Ž. Mijatović

**PROINFLAMATORNI I ANTIINFLAMATORNI CITOKINI KAO
POKAZATELJI OPERATIVNE TRAUME I STEPENA TKIVNOG
OSTEĆENJA KOD LAPAROSKOPSKE I KONVENCIONALNE
HOLECISTEKTOMIJE**

doktorska disertacija

Beograd, 2017

FACULTY OF MEDICINE

UNIVERSITY OF BELGRADE

Srdjan Ž. Mijatović

**PROINFLAMMATORY AND ANTIINFLAMMATORY CYTOKINES
AS MARKERS OF SURGICAL TRAUMA AND TISSUE DAMAGE IN
LAPAROSCOPIC AND CONVENTIONAL CHOLECYSTECTOMY**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2017

MENTOR: Prof.dr Branislav Stefanović, hirurg, redovni profesor na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, u penziji

KOMENTOR: Prof.dr Vladimir Trajković, imunolog, redovni profesor na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

ČLANOVI KOMISIJE:

- 1. Akademik prof.dr Predrag Peško**, hirurg, redovni profesor na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.
- 2. Prof.dr Vladimir Đukić**, hirurg, redovni profesor na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.
- 3. Prof.dr Milorad Pavlović**, infektolog, redovni profesor na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, u penziji

Na početku, želim da se od sveg srca zahvalim:

- **Mentoru, prof.dr Branislavu Stefanoviću** na podršci i saradnji tokom izrade teze.
- **Komentoru, prof.dr Vladimiru Trajkoviću** na izuzetnom entuzijazmu i nesebičnoj stručnoj pomoći prilikom izbora i izrade teze.
- **Mojim kolegama doktorima, medicinskim sestrama i laborantima na Klinici za Urgentnu hirurgiju KCS** koji su mi pomogli prilikom izrade teze.
- **Poštovanim ispitanicima**, koji su uzeli učešće u istraživanju.
- **Porodici i prijateljima**, koji su me podržali u trenucima gubitka optimizma.

Posvećeno Neveni

Proinflamatorni i antiinflamatorni citokini kao pokazatelji operativne traume i stepena tkivnog oštećenja kod laparoskopske i konvencionalne holecistektomije

Sažetak

Uvod. Dva najcesca oboljenja žucne kese jesu kalkuloza i neoplazma žučne kese. Procenjuje se da je kalkuloza žučne kese prisutna kod 10-18% adultne populacije u svetu. Kalkuloza žučna kese je najčešći gastroenterološki i hirurški razlog prijema na hospitalno lecenje. Evaluacija težine bolesti sada se pravi uglavnom na bazi protokola (Tokijski protokol 2007, dopunjen 2013) . Na osnovu sprovedenih kliničkih ,laboratorijskih, radiografskih dijagnostičkih procedura, kao i praćenja proinflamatornih, antiinflamatornih i markera oksidativnog stresa kod klasične (konvencionalne) hirurgije i minimalno invazivne (laparoskopske) hirurgije žučne kese otvaraju se nove mogućnosti u kvalitetu i načinu lečenja obolelih od ove vrste bolesti.

Oslobađanje citokina

TNF- α se oslobada iz monocita, kao odgovor na prisustvo endotoksina u cirkulaciji. Značajan je medijator akutne faze inflamacije.

IL-1b je proinflamatorni citokin, koji se produkuje u toku zapaljenskih procesa odgovornih za vecinu simptoma kod seapse.

IL-2 predstavlja citokin koji stvaraju antigenom aktivirane T ćelije i koji deluje autokrino stimulišući proliferaciju T ćelija, a takođe potencira rast i otpornost regulatornih T ćelija.

IL-4 predstavlja citokin koji najviše stvara Th 2 ćelijska subpopulacija CD 4 „helper“ limfocita čija je osnovna funkcija da pokrene diferencijaciju Th 2 ćelija od CD 4 prekursora, da stimuliše B ćelije u stvaranju IgE antitela i IgG1 kao i da suprimira funkcije makrofaga koje zavise od posredovanja interferona γ

IL-5 predstavlja citokin koji sekretuju Th2, T „helper“ ćelije i mastociti. Svoj efekat

ispoljava putem IL 5 receptora. Ima značajnu ulogu u uticaju na rast i razvoj B limfocita i samim tim na veću produkciju antitela.

IL-6 se oslobada iz makrofaga kao odgovor na povredu tkiva. Ovaj medijator odgovoran je za sintezu proteina akutne faze uključujući i CRP.

IL-9 Interleukin 9 (IL-9) je pleotropni interleukin koji svoje dejstvo ispoljava na limfocitima, mastocitima, hemopoetskim ćelijama, respiratornom epitelu i glatkoj mišićnoj muskulaturi bronha.

IL-10 je citokin koji inhibira oslobađanje proinflamatornih citokina.

IL-12 Služi kao medijator odgovora urođene imunosti na intracelularne mikroorganizme i kao ključni induktor celularnog imunskog odgovora na njih.

IL-13 predstavlja citokin koji najviše proizvode aktivirane Th 2 ćelije. IL-13 ima ulogu u nekoliko stadijuma maturacije i diferencijacije B ćelija

IL-17 Grupa Interleukina 17 čine IL-17a, IL-17b, IL-17c, IL-17d, IL-17e, IL 17f (poznatiji pod nazivom IL 25), od kojih IL-17a ima vodeću ulogu u proinflamatornim reakcijama naročito odloženih, tako što mobilise monocite i neutrofile na mesto inflamacije i deluje sinergistički sa TNF α i IL-1

IL-22 spada u grupu interleukina IL-10 zajedno sa IL-19, IL-20, IL-24, i IL-26. Ima ulogu u iniciranju mehanizama urođene imunosti protiv bakterijskih patogena naročito u plućnom tkivu i u gastrointestinalnom traktu

IFN γ predstavlja citokin koji je veoma je značajan u aktivaciji mehanizama urođene i stečene imunosti, protiv virusa, bakterija i parazita.

TGF β Faktor transformacije rasta beta „transforming growth factor beta” predstavlja multifunkcionalni citokin koji pripada porodici TGF β grupi citokina u koju spadaju TGF β -1, TGF β -2 i TGF β -3 . Stvaraju ga mnoge vrste ćelija kao što su makrofagi.

Stres oksidativni marker

NO Azot monoksid sam po sebi ima značajnu ulogu u prenosu celularnih signala i kao antioksidans, ali njegove brze reakcije sa drugim slobodnim radikalima na prvom mestu sa superoksidom O_2^- i tako formirajući peroksinitrit ($ONOO^-$) koji je jak oksidans.

Nitrotirozin Predstavlja product NO posredovanog oksidovanog stresa i njegove vrednosti su povišene u brojnim patološkim stanjima. Može se detekovati u telesnim tečnostima (plazma, urin).

Ciljevi

1. Dokazati da su nivoi proinflamatornih medijatora (TNF α , IL-1b, IL-4, IL-5, IL-6) signifikantno povišeni kod pacijenata operisanih klasičnim hirurškim metodama u odnosu na laparoscopske hirurske metode.
2. Dokazati da postoje značajne razlike u dužini trajanja operativnih procedura kod klasične u odnosu na laparoscopsku hirurgiju.
3. Dokazati da parametri inflamacije signifikantno rastu kod klasičnih hirurških metoda u odnosu na laparoscopsku.
4. Dokazati da nivo proinflamatornih citokina stoji u korelaciji sa ishodom operativnog lečenja te da neki od njih mogu biti rani prognostički faktori.
5. Pokazati korelaciju nivoa markera oksidativnog stresa sa ishodom lečenja kod konvencionalne hirurške metode u odnosu na laparoscopsku hirurgiju.
6. Dokazati da je laparoscopska holecistektomija zlatni standard za operativno lečenje pacijenata sa holelitijazom.
7. Predložiti protokole pracenja proinflamatornih, antiinflamatornih citokina kao i markera oksidativnog stresa kod klasičnih hirurških operacija žučne kese i laparoscopskih operacija žučne kese.

Metod. Studija je dizajnirana kao prospektivna. Izvedena je na pacijentima Klinike za urgentnu hirurgiju Urgentnog centra Kliničkog Centra Srbije. Grupa ispitanika broji 60 bolesnika koji su podeljeni u dve grupe. Prvu grupu sačinjavaju pacijenti koji su operativno tretirani, kod kojih je učinjena klasična holecistektomija a druga grupa su pacijenti kod kojih je učinjena laparoscopska holecistektomija. U studijsku grupu ušli su bolesnici starosti 36-78 god, koji nisu imali sistemska ni maligna oboljenja. Iz studije su takođe isključeni pacijenti sa ikterusom.

Rezultati. Izmedju posmatranih grupa ispitanika nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima proinflamatornih interleukina preoperativno dok su statistički značajne veće vrednosti izmerene 24 i 72 sata, nakon operacije u grupi sa klasičnom operacijom žučne kese, dok su vrednosti antiinflamatornih citokina pokazivale statistički značajan porast kod pacijenata sa klasičnom operacijom žučne kese. Između analiziranih grupa nije uočena statistički značajna razlika u polu ispitanika

Zaključak. Nivo koncentracije proinflamatornih i antiinflamatornih citokina, kao i markera oksidativnog stresa su suštinski pokazatelj imunološkog stanja organizma i opterećenja operativnom traumom. Suspenzija aktivnosti proinflamatornih i stimulacija antiinflamatornih citokina ima direktan uticaj na način i vrstu operativnog lečenja. Sistemsko praćenje stres oksidativnih markera doprinosu sustinskom razumevanju njihovog uticaja na homeostazu tkiva i razvijanje patoloskih procesa, kao i njihovu povezanost sa rizikom od nastajanja oboljenja sto govori u prilog multidiscipliranog praćenja ovih procesa.

Ključne reci: Zučna kesa, citokini, oksidativni stress, klasična i laparoscopska hirurgija

Naučna oblast: Medicina

Uža oblast: Opšta hirurgija

UDK broj:

PROINFLAMMATORY AND ANTIINFLAMMATORY CYTOKINES AS MARKERS OF SURGICAL TRAUMA AND TISSUE DAMAGE IN LAPAROSCOPIC AND CONVENTIONAL CHOLECYSTECTOMY

Abstract

Introduction. There are two most common of gall bladder are calculosis and neoplasms. It is estimated that calculosis is present in between 10 I 18% of adult population worldwide. Gallstones are the most common gastroenterological and surgical reason for hospital admission. Evaluation of serious consequences is based on 2007 Tokyo Protocols which was reevaluated in 2013. On the basis of clinical, laboratorial, 'and radiographic diagnostic procedures as well on evaluation of pro and antiinflammatory markers as well as markers of oxidative stress in open(classical) and minimally invasive(laparoscopic) surgery of gallbladder there can be created new possibilities in quality and way of treating patients with gallstone disease.

Cytokine secretion

TNF α is released by monocytes as a consequence of presence of endhotoxins in bloodstream. It is significant acute phase mediator.

IL 1 β is a proinflammatory cytokine and is responsible for most sepsis linked symptoms and immunological changes.

IL 2 is a cytokine created by antigen stimulated T cells whose autocrine effect causes further proliferation of T cells and also enhances T cell growth and resistance.

IL 4 is a cytokine secreted by Th 2 CD4 T cell subpopulation whose basic function is to commence Th 2 cell differentiation from CD 4 precursors, to stimulate B cells to create IgE and IgG1 antibodies and to decrease IFN γ stimulated macrophage functions.

IL 5 is secreted by Th 2 helper cells and mastocytes. Its effect is mediated by IL 5 receptors. It has significant role in B cells development and enhanced antibody production.

IL 6 is released by the macrophages as a tissue damage response. This mediator is responsible for acute phase protein synthesis such as CRP.

IL 9 IL 9 is pleiotropic mediator which expresses its action on mastocytes, hematopoietic cells, respiratory epithel and soft muscle tissue of bronch.

IL 10 is an anti-inflammatory cytokine and is a significant immunosuppression marker.

IL 12 is mediator of inborn immunity on intracellular microorganisms and is a significant inducer of cellular immunity.

IL 13 is a cytokine produced by activated Th 2 cells. It has role in differentiation and maturation of B cells.

IL 17 IL 17 group of cytokines is composed of IL 17a, IL 17b, IL 17c, IL 17d, IL 17e, IL 17f (also known as IL 25) of which IL 17a has a leading role in postponed proinflammatory reactions by mobilizing monocytes and neutrophils on inflamed area and works synergistically with $\text{TNF}\alpha$ and IL-1.

IL 22 is part of IL 10 cytokine group along with IL-19, IL-20, IL-24, i IL-26. It has role in initiating inborn immunity against bacteria especially in lungs and gastrointestinal tract.

IFN γ is cytokine which is very significant in activating both inborn and gained immunity against virus, bacteria and parasites.

TGF β Transforming growth factor beta represents multifunctional cytokine which belong to TGF β family which also includes TGF β 1, TGF β 2 and TGF β 3. It is created by lots of cell types such as macrophages.

Oxidative stress markers

NO Nitrogen monoxide has a significant role in cellular signalization and as an antioxidant but its fast reactions with other free radicals such as superoxide(O_2^-) and then forming peroxynitrite (ONOO^-) which is a strong oxidant.

Nitrotyrosine is a product of NO mediated oxidative stress and its values are increased in numerous pathological conditions and it can be detected in body fluids (plasma, urine).

Method. Study was designed as prospective. It was performed on Clinic for Emergency surgery Clinical Centre of Serbia. There were 60 participants who were divided in two groups. First group was composed of patients who underwent open cholecystectomy while second was composed of patients who underwent laparoscopic cholecystectomy. Age of participants was between 36 and 78 years. Patients who were excluded were those who had icterus and malignant disease.

Results. Between observed groups there wasn't statistically significant difference in values of proinflammatory cytokines preoperatively while statistically significant higher values were measured 24 and 72 hours postoperatively in group who underwent open cholecystectomy. Values of anti-inflammatory cytokines were statistically significantly higher in patients who underwent open cholecystectomy.

Aims

1. Prove that levels of proinflammatory cytokines (TNF α , IL 1b, IL 4, IL 6) are increased in patients who were operated by an open technique.
2. Prove that there is significant difference in duration of operative procedure in open in contrast to laparoscopic surgery.
3. Prove that inflammation parameters are significantly increased in open technique
4. Prove that values of proinflammatory cytokines are in correlation with prognosis of surgical treatment and to prove if are they early prognostic factors.
5. Prove correlation of values of oxidative stress markers with prognosis in patients operated by open and laparoscopic technique.
6. Prove that laparoscopic cholecystectomy is a gold standard in treating gallstone patients.
7. Propose of monitoring of proinflammatory, anti-inflammatory cytokines and oxidative stress markers in open and laparoscopic cholecystectomies.

Conclusions. Concentration levels of pro and anti-inflammatory cytokines as well as markers of oxidative stress are representative of immunological status and burden of surgical trauma. Suppression of proinflammatory and stimulation of anti-inflammatory

cytokines has a direct influence on way and choice of operative technique. Monitoring of oxidative stress markers contributes to better understanding of their influence of homeostasis tissues and development of pathological process as well as their connection with diseases, contributes to multidisciplinary monitoring of these processes.

Keywords: Gallbladder, cytokines, oxidative stress, open and laparoscopic cholecystectomy

Scientific area: Medicine

Specific area: General surgery

UDK number:

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1 Istorijat i epidemiologija holecistitisa.....	1
1.2 Anatomija, embriologija, histologija i fiziologija hepatobilijarnog trakta	2
1.2.1 Anatomija	2
1.2.2 Embriologija žučne kese i hepatobilijarnog trakta	4
1.2.3 Histološka građa žučne kese	5
1.2.4 Fiziologija hepatobilijarnog trakta.....	6
1.3 Etiologija i patogeneza upale žučne kese.....	7
1.4. Dijagnostika kod akutnog holecistitisa	9
1.4.1. Multifaktorijalni scoring sistem za procenu težine holecistitisa	11
1.5. Tretman infekcije kod holecistitisa.....	13
1.5.1. Patogeneza i faktori procene bilijarne infekcije.....	14
1.5.2. Perforativni holecistitis i bilijarni peritonitis	15
1.5.3. Profilaktički tretman antibioticima	16
1.6 Operativno lečenje	17
1.6.1 Indikacije i timing za operaciju.....	17
1.6.2. Operativni tretman kod holecistitisa.....	18
1.6.2.A. Otvorena(klasična) holecistektomija	18
1.6.2.B. Laparoscopska holecistektomija	18
1.7 Uloga interleukina u praćenju inflamatornog odgovora kod upale žučne kese.....	21
1.7.1 Interleukin 1b	22
1.7.2 Interleukin 2	23
1.7.3 Interleukin 4	24
1.7.4 Interleukin 5	25
1.7.5 Interleukin 6	26
1.7.6 Interleukin 9	27

1.7.7 Interleukin 10	28
1.7.8 Interleukin 12 p70	29
1.7.9 Interleukin 13	29
1.7.10 Interleukin 17	30
1.7.11 Interleukin 22	31
1.7.12 Interferon gama (IFN γ)	32
1.7.13 Tumor necrosis factor alpha (TNF α)	33
1.7.14 C reaktivni protein (CRP)	34
1.7.14 Faktor transformacije rasta beta (TGF β)	36
1.8 Uloga oksidativnog stresa i biomarkeri oksidativnog stresa u laparoskopskoj hirurgiji žučne kese.....	36
1.9. Body Mass Index (BMI)	39
1.10 Dugoročna prognoza operativnog lečenja holecistitisa	40
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	41
3. MATERIJAL I METODE.....	43
3.1 Ispitanici	44
3.2 Procenje nivoa citokina	45
3.3 Izvođenje hirurške intervencije	46
3.4 Statistička analiza	46
4. REZULTATI.....	48
4.1. Opšte karakteristike ispitanika	49
4.2. Parametri inflamacije	50
4.3. Protokol praćenja vrednosti TNF α kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	52
4.4 Promene vrednosti vrednosti IL-1 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	53
4.5 Promene vrednosti vrednosti IL-2 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	54
4.6 Promene vrednosti vrednosti IL-4 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	55
4.7 Promene vrednosti vrednosti IL-5 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	56
4.8 Promene vrednosti IL-6 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	57

4.9 Promene vrednosti IL-9 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	58
4.10 Promene vrednosti IL-10 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	59
4.11 Promene vrednosti IL-12 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	60
4.12 Promene vrednosti IL-13 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	61
4.13 Promene vrednosti IL-17 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	62
4.14. Promene vrednosti IL-22 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	63
4.15. Promene vrednosti IFN γ kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese	64
4.16. Promene vrednosti TGF β kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese.....	65
4.17. Promene vrednosti NO kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese.....	66
4.18. Promene vrednosti nitrotirozinaze (NT) kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese.....	67
5. DISKUSIJA.....	68
6. ZAKLJUČCI.....	84
7. LITERATURA.....	87

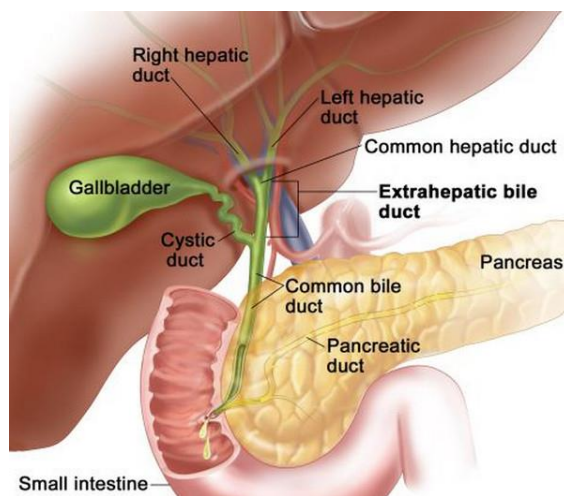
1. UVOD

1.1 Istorijat i epidemiologija holecistitisa.

Dva najčešća oboljenja žučne kese jesu kalkuloza i neoplazme žučne kese. Procenjuje se da je kalkuloza žučne kese je prisutna kod čak 10-15% adultne populacije u SAD odnosno između 20 i 25 miliona Amerikanaca (1) . Sa preko 1.8 miliona ambulantnih pregleda, kalkuloza žučne kese je najčešći gastroenterološki i hirurški razlog prijema na hospitalno lečenje (2) , mada se procenjuje da je taj broj i veći. Sa uvođenjem laparoscopske holecistektomije 1989. broj učinjenih holecistektomija je u stalnom porastu, te se procenjuje da se godišnje izvede oko 750 000 laparoscopskih holecistektomija (1, 3), ali je primećen trend održavanja broja izvedenih operacija sa čak blažim padom u broju u SAD (4) . Jedan od najzaslužnijih lekara koji su dali svoj doprinos u operativnom lečenju holecistitisa je John Benjamin Murphy (1857-1916). Smatra se da je on prvi upotrebio endoskop za pristup žučnoj kesi kroz prethodno učinjenu holecistostomu i učinio ekstrakciju kalkulusa. Procedura je protekla bez komplikacija, dren je uklonjen nakon pet nedelja i žučna kesa pacijenta je povratila svoj normalan izgled. Pored uloge pionira endoscopske hirurgije, njemu se pripisuje i izum anastomoze bez sutura te je tako izveo prvi holecisto-duodenalnu anastomozu uz pomoć kasnije nazvanog „Marfijevog dugmeta“ koje se sastoji iz dva metalna dela koja su bili fiksirana šavom duvankese između organa na kojima je formirana anastomoza čime je napravio prvi korak u kasnijem korišćenju staplera. Pored doprinosa u operativnom lečenju, Murphy je dao doprinos i u kliničkom pregledu pacijenata te je poznat „Marfijev znak“ koji predstavlja bolnu osetljivost ispod desnog rebarnog luka u toku dubokog udaha pacijenta.

1.2 Anatomija, embriologija, histologija i fiziologija hepatobilijarnog trakta

1.2.1 Anatomija

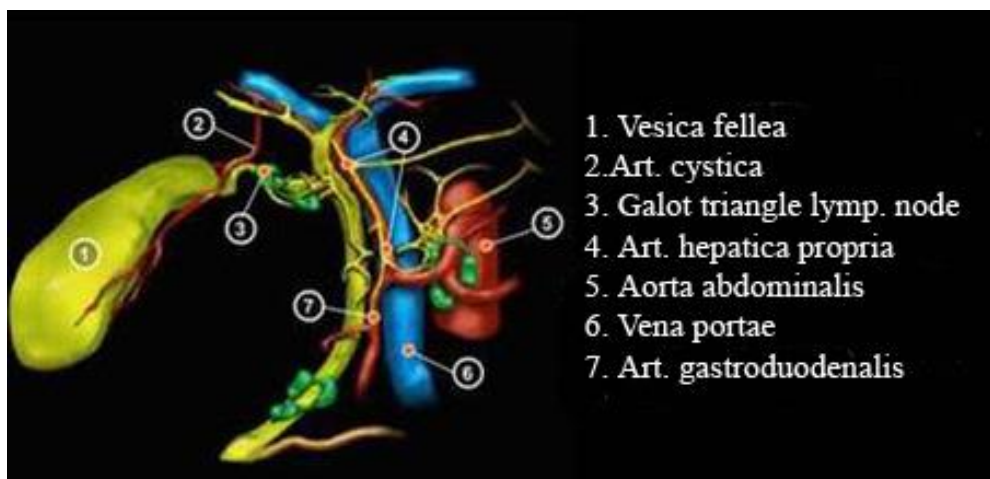


Slika 1. Anatomija bilijarnog trakta

Žučna kesa je organ kruškastog oblika koji se nalazi ispod donje ivice IV b i V segmenta jetre. Ima donju peritonealnu ivicu i gornju hepaticnu ivicu sa kojom naleže u loži žučne kese. Od parenhima jetre tkivo žučne kese je odvojeno tankim slojem vezivnog tkiva gde se u nekim slučajevima mogu naći mali Luškini žučni vodovi koji polaze od jetre ka žučnoj kesi iz kojih može doći do intra i postoperativnog curenja žuče i bez vidljivog lediranja žučnog voda. Sastoji se od tela, fundusa i infundibuluma koji vodi do vrata ductusa cysticus. Mukoza d. cysticus sadrži male nabore koji se zovu Heister-ove valvule, koji su značajni kao potencijalni uzrok težeg prolaska katetera prilikom intraoperativne holangiografije. Ponekad se u infundibulumu može naći kesasto proširenje koje se naziva Hartmanova kesa. Područje koje ograničavaju d. cysticus, d. hepaticus communis i donja ivica jetre naziva se Calot-ov trougao.

Levi i desni d. hepaticus zajedno formiraju d. hepaticus communis koji sa d. cysticusom formira d. choledochus koji se zajedno sa a .hepaticom propria i v. portae nalaze u

hepatoduodenalnom ligamentu. Dijametar gornjeg segmenta d. choledochusa je oko 5-6 mm ,i sastoji se od supraduodenalnog, infraduodenalnog i intraduodenalnog (intramuralnog) segmenta i zajedno sa zajedničkim pankreatičnim vodom (Winslow) se ulivaju u Vaterovu papilu u duodenumu u kojoj se nalazi cirkularni sloj glatkih mišićnih ćelija koje formiraju Odijev sfinkter koji onemogućava refluks duodenalnog sadržaja u jedan ili oba navedena voda.



1. Vesica fellea
2. Art. cystica
3. Galot triangle lymph. node
4. Art. hepatica propria
5. Aorta abdominalis
6. Vena portae
7. Art. gastroduodenalis

Slika 2. Vaskularizacija bilijarnog stabla

Vaskularizacija žučne kese zavisna je od a.cysticae koja je grana desne hepatične arterije koja takođe daje manje grane za d. cysticus. dok d. choledochus dobija manje grane od a.hepaticae proprije, a. gastroduodenalis, a. pancreaticoduodenalis sup. i desne gastrične arterije.

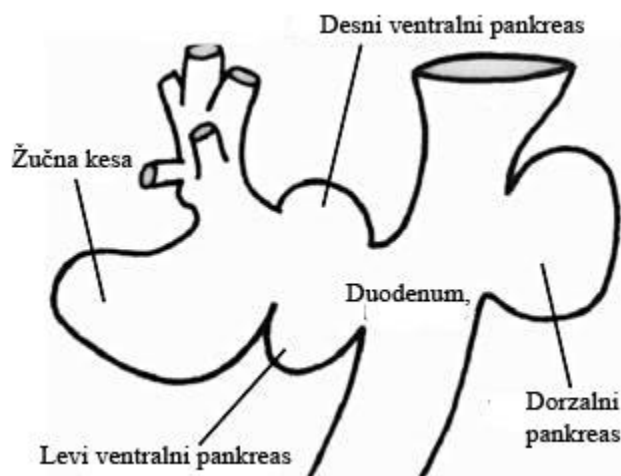
Inervacija bilijarnog stabla Žučna kesa dobija parasimpatičku inervaciju od desnog n. vagusa dok simpatičku inervaciju dobija od Th VII-IX celijačnog pleksusa.

Limfna drenaža bilijarnog stabla Subserozni i submukozni limfatici žučne kese dreniraju se u Lundovu limfnu žlezdu koja se nalazi pored a. cystice u Calot-ovom trouglu između d. cysticusa i d. hepaticusa communis-a. Opisana su dva puta limfne drenaže žučne kese,

desno od hepatoduodenalnog ligamenta u periholedohalne, pankreatikoduodenalne , i aortokavalne limfne noduse i levo u periholedohalne, celijačne, paraaortalne i noduse duž a. hepaticae proprije.

1.2.2 Embriologija žučne kese i hepatobilijarnog trakta

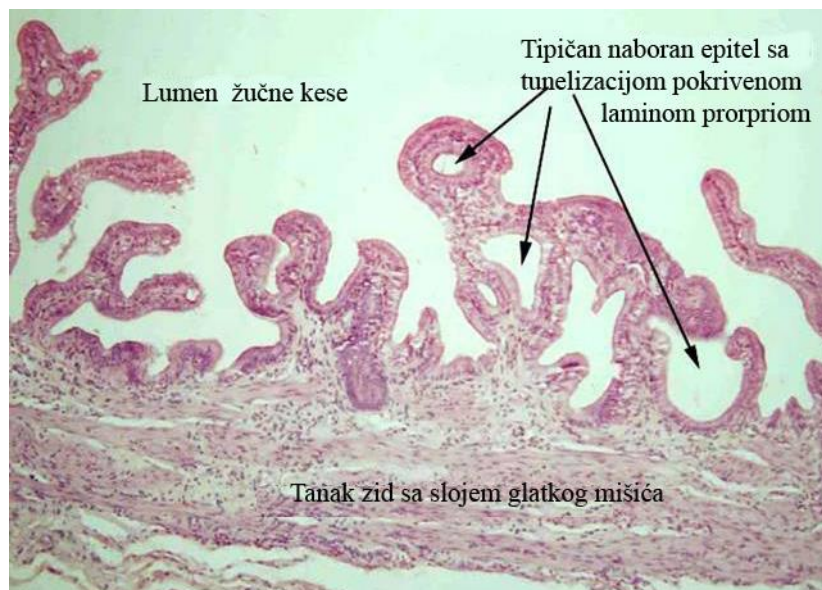
Hepatobilijarni trakt potiče od strukture koja se naziva hepaticni divertikulum koji nastaje na prednjem delu primitivnog creva početkom četvrte nedelje intrauterinog razvoja (5) . U daljem toku na hepaticnom divertikulumu se izdvajaju dva pupoljka, jedan na kaudalnom i drugi na kranijalnom delu. Od kaudalnog dela se dodatno diferentuju gornji i donji pupoljak, od gornjeg nastaje žučna kesa i d.cysticus dok od donjeg nastaju levi i desni ventralni pankreas, dok od kranijalnog dela nastaje jetra i ekstrahepaticni žučni vodovi (5). Žučni kanalikuli se diferentuju od hepatocita dok terminalni žučni vodovi nastaju od mezenhima transverzalnog septuma, od kojeg takođe nastaje vezivna arhitektura jetre (5) . Razvitak intrahepaticnih žučnih vodova se završava oko 10 nedelje intrauterinog razvoja. Rekanalizacija d.choledochusa počinje oko pete nedelje i odvija se uz elongaciju d.choledochusa uz migraciju epitelnih ćelija. Lumen holedohusa se zatim nastavlja u d.cysticus oko sedme nedelje dok žučna kesa ostaje kao čvrsta masa do dvanaeste nedelje razvića. Do kraja šeste nedelje dolazi do rotacije d.choledochusa i ventralnog pupoljka pankreasa za 180 stepeni nakon čega se može uočiti otvaranje d.choledochusa u duodenumu (5) .



Slika 3. Šematski prikaz primordijalnih struktura hepatobilijarnog trakta

1.2.3 Histološka građa žučne kese

Zid žučne kese se sastoji od sledećih histoloških slojeva: mukoze, lamine muscularis proprie i seroze. Lamina muscularis mucosae i submukoza ne postoje. Epitel se sastoji od jednorednog sloja dugačkih cilindričnih ćelija sa bazalnim jedrom i nejasnim vakuolama. Lamina propria se sastoji od rastresitog vezivnog tkiva sa krvnim sudovima, limfaticima i ponekad sa IgA plazma ćelijom u slučaju hronične inflamacije (6) . Muskularni sloj se sastoji od kosog, kružnog i longitudinalnog sloja, koji se obično ne diferenciraju jasno. Seroza se sastoji od perimuskularnog vezivnog tkiva, krvnih sudova, nerava i masnog tkiva (6) .

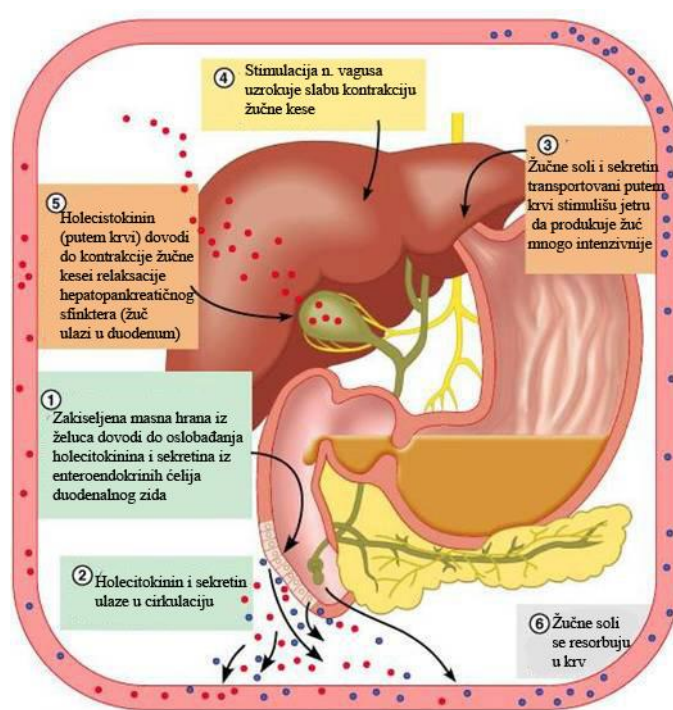


Slika 4. Histološki preparat žučne kese

1.2.4 Fiziologija hepatobilijarnog trakta

Hepatobilijarni trakt je integrisan zajedno sa drugim delovima digestivnog trakta u toku digestije i tokom gladovanja uz pomoć različitih neurohumoralnih mehanizama (7) . Jetra kontinuirano sekretuje žuč u intrahepatične puteve odakle ulazi u ekstrahepatične vodove. Količina žuči koja se nalazi u žučnoj kesi zavisi od kontrakcija Odijeveg sfinktera između obroka. Takođe, između obroka oko 10 % sekretovane žuči dospeva u duodenum i na taj način što sekretovana žuč podiže pritisak koji je veći od bazalnog pritiska Odijeveg sfinktera dok se ostali deo žuči skladišti u žučnoj kesi (7) . Dolazeća žuč dovodi do relaksacije zida žučne kese preko adrenergičkih i neholinergičkih neadrenergičkih vlakana. Glavni neurohumoralni činioci koji utiču na motilitet žučne kese su n. vagus, splanhnični nervi i hormon holecistokinin-CCK (8,9) . N.vagus u svom stablu sadrži eferentna i aferentna vlakna. Eferentna vlakna potiču od preganglijskih neurona koji formiraju sinapse sa intramuralnim postganglijskim neuronima u zidu žučne kese (7) . Stimulacija posredovana eferentnim vlaknima dovodi do kontrakcije zida žučne kese i ovaj proces antagonizuju atropin i heksametonijum, muskarinski antagonisti (7) . U toku gladovanja

žučna kesa održava tonične kontrakcije koje mogu biti propulzivne i nepropulzivne (7). U toku digestije dolazi do jakih kontrakcija žučne kese i relaksacije Odijeveg sfinktera što dovodi do oslobađanja veće količine žuče u d.choledochus i u duodenum. U toku digestije na motornu aktivnost žučne kese utiču tri faze digestije: cefalična, antralna i duodenalna. Najveći deo svog sadržaja žučna kesa oslobađanja u toku intestinalne faze posredstvom CCK na taj način što CCK utiče direktno na holinergičke neurone (8,10) .



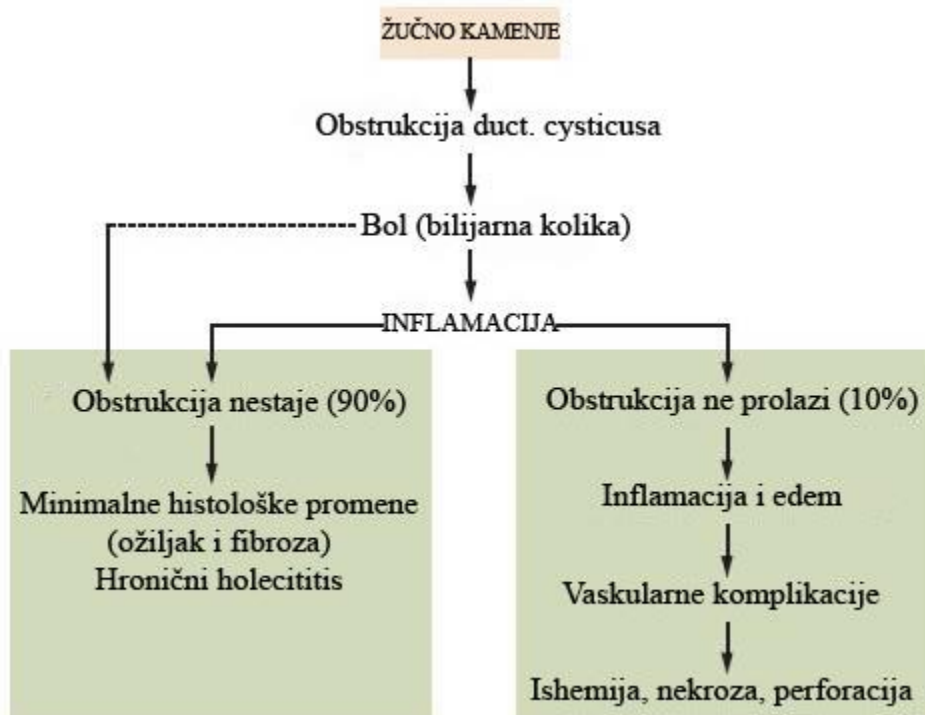
Slika 5. Šematski prikaz lučenja žuči u toku obroka

1.3 Etiologija i patogeneza upale žučne kese

Upala žučne kese je u preko 90 % slučajeva uzrokovan bilijarnom kalkulozom. Akutni akalkulozni holecistitis je obično posledica nekog drugog sistemskog oboljenja. U manje od 1% slučajeva uzročnik može biti tumor ductusa cysticus (11) . Opstrukcija d. cysticus kalkulusom dovodi do distenzije, inflamacije i edema zida žučne kese. Smatra se da je incijalni inflamatorni odgovor kod holecistitisa posredovan putem mukozalnog toksina lizolecitina koji je produkt lecitina kao i prisustvom žučnih soli i faktora aktivacije

trombocita (11). Povećanje sinteze prostaglandina dovodi do pojačavanja inflamatornog odgovora, dok je sekundarna bakterijska kontaminacija opisana kod 15-30% kod kojih nisu pronađene komplikacije upale žučne kese (11). Makroskopski holecista je zadebljalog zida i hiperemična sa poljima subserozne hemoragije. Intraoperativno se često pronalazi i periholecistitična slobodna tečnost, a u najtežim slučajevima kod 5-10% pacijenata može doći do nekroze zida žučne kese (11).

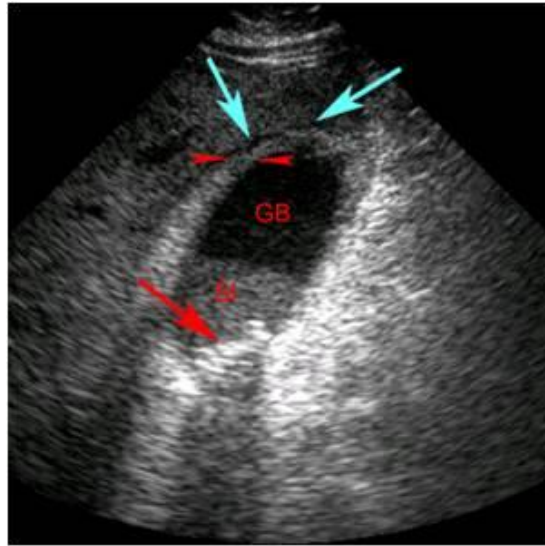
Ukoliko ne dođe do prestanka opstrukcije d.cysticusa ili se pak ne učini blagovremena holecistektomija, dolazi do sekundarne bakterijske kontaminacije i do razvijanja gangrenozne forme holecistitisa, do razvijanja empijema ili apscesa, a u najtežim slučajevima i do perforacije žučne kese i nastanka peritonitisa. Na slici broj 6. prikazan je šematski prikaz progresije zapaljenja žučne kese. U pojedinim slučajevima kada su prisutni mikroorganizmi koji proizvode gas, može nastati emfizematozni holecistitis. U nekomplikovanim slučajevima u laboratorijskom nalazu prisutna je leukocitoza koja se kreće između 12 i 15 000 uz lako povišene vrednosti bilirubina, transaminaza i amilaza (12). Izražen ikterus je prisutan kod hloedoholitijaze, ili sa izraženim periholecistitičnim procesom koji je uzrokovan impakcijom kalkulusa u infundibulum žučne kese (Mirizzi-jev sindrom). Diferencijalno dijagnostički u odnosu na akutni holecistitis u obzir mogu doći i perforirani peptički ulkus, akutni pankreatitis, akutni infarkt miokarda, pneumonija i herpes zoster koji zahvata interkostalni mišić (11).



Slika 6. Šematski prikaz patogeneze holecistitisa

1.4. Dijagnostika kod akutnog holecistitisa

Ehosonografski pregled abdomena je najkorisnija i najpristupačnija dijagnostička metoda kod bilijarne kalkuloze čija se senzitivnost i specifičnost kreće i do 95 % (11). Pored dijagnostike bilijarne kalkuloze takođe može dati podatke o zadebljanju zida žučne kese kao i postojanju periholecističnog infiltrata. Fokalna mekoća pri prislanjanju ultrazvučne sonde takođe može biti jedan od dijagnostičkih parametara (ehosonografski Marfijev znak). Kod atipičnih slučajeva bilijarno radionuklidno skeniranje (HIDA- **hepatobiliary iminodiacetic acid**) može biti korisno kod atipičnih slučajeva i izostanak punjenja d. cysticus nakon četiri sata od primene radionuklida je visoko senzitivno i specifično za opstrukciju d. cysticus (11).



Slika 7. Ehosonografski nalaz kod akutnog holecistiisa

Kompjuterizovana tomografija (CT) takođe zauzima značajnu ulogu u dijagnostici kod akutnih holecistitisa jer se često koristi kod pacijenata sa akutnim abdominalnim bolom.



Slika 8. Ehosongorafski nalaz kod akutnog holecistiisa

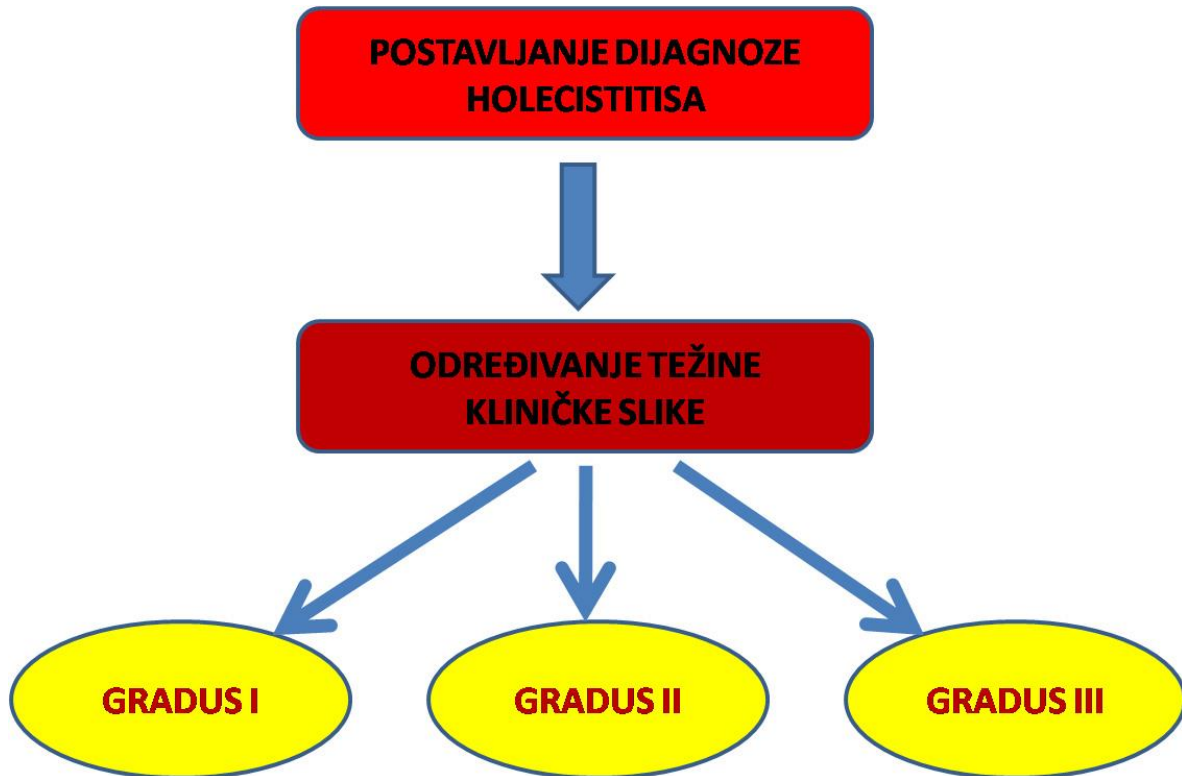
1.4.1. Multifaktorijski skoring sistem za procenu težine holecistitisa

Prvi vodič za procenu težine holecistitisa koji je opšte prihvaćen je donet 2007. u Tokiju. Revizija parametara od značaja učinjena je 2012. (13). Određivanje težine kliničke slike i ishoda zasnovano je na kliničkim znacima, laboratorijskom i „imaging“ nalazu te su na osnovu navedenih parametara ustanovljena tri gradusa. Gradus I podrazumeva blagi holecistitis kod prethodno zdrave osobe kod koje nije ustanovljena multiorganska disfunkcija i sa blagim inflamatornim promenama na žučnoj kesi i kod koje bi holecistektomija mogla da bude izvedena bezbedno bez značajnijeg rizika od komplikacija. Kod pacijenata koji su svrstani u gradus II postoji izražena leukocitoza sa vrednostima preko 18 000, palpabilnom mekom masom ispod desnog rebarnog luka, kod kojih tegobe traju duže od 72 sata i kod kojih postoje znaci lokalnih komplikacija (gangrenozni holecistitis, periholecistitis, bilijarni peritonitis, emfizematozni holecistitis, apsces jetre). Kod gradusa III postoje znaci multiorganske disfunkcije (MODS) . Za procenu i vrstu perforacije žučne kese koristi se Niemerova klasifikacija koja je doneta još 1934. i koja klasifikuje sledeće tipove perforacije: Tip I koji predstavlja akutnu perforaciju u abdominalnu duplju, tip II subakutnu perforaciju sa formiranjem apscesa i tip III koji predstavlja hroničnu perforaciju sa fistulizacijom u drugi organ. Na tabeli 1. prikazan je šematski prikaz težine zapaljenja žučne kese.

Tabela 1. Gradiranje težine holecistiitsa

Gradus III holecistitis je određen disfunkcijom nekog od navedenih sistema organa	
Kardiovaskularna disfunkcija	Hipotenzija koja zahteva stimulaciju dopaminom većim od 5µg/kg/min
Neurološka disfunkcija	Poremećen senzoriјum
Respiratorna insuficijencija	PaO ₂ /FiO ₂ odnos <300
Bubrežna insuficijencija	Oliguria, kreatinin >2mg/dl
Hepatična insuficijencija	PT-INR > 1.5
Hematološki poremećaj	Broj trombocita <100.000/mm ³
Gradus II holecistitis je određen nekim od navedenih parametara	
Povišena vrednost leukocita >18 000/mm ³	
Palpabilna meka masa u gornjem desnom kvadrantu abdomena	
Trajanje tegoba duže od 72 sata	
Dokazani lokalni znaci inflamacije (gangrenozna žučna kesа, periholecistitis, apsces, bilijarni peritonitis)	
Gradus I (blagi holecistitis) se definiše kao holecistitis kod zdrave osobe bez organske disfunkcije	

Algoritam 1. Gradiranje težine holecistitisa



1.5. Tretman infekcije kod holecistitisa

Iako holecistektomija kod pacijenata sa holecistolitijazom predstavlja kurativno rešenje, antibiotski i konzervativan tretman imaju značajnu ulogu kod pacijenata kod kojih je indikovana odložena holecistektomija. Još uvek su mišljenja o ranoj (holecistektomija učinjena do 7 dana od nastanka tegoba) i odloženoj holecistektomiji kojoj prethodi konzervativni tretman kontroverzna, mada u nekim skorijim meta analizama nije pronađena statistički značajna razlika u morbiditetu i konverziji u otvorenu holecistektomiju u oba slučaja (14). Iako je broj dokaza koji preporučuju rutinsku primenu antibiotika u tretmanu akutnog holecistitisa ograničen, zvanični vodiči podržavaju njihovu upotrebu (15,16). U

nekim studijama se smatra (17) da primena antibiotika nije neophodna u konzervativnom tretmanu s obzirom na to da u većini slučajeva klinički tok akutnog holecistitisa prolazi bez komplikacija. U jednoj kohortnoj studiji je ispitivana povezanost dužine trajanja parenteralne primene antibiotika i ponovnog prijema na hospitalno lečenje gde je prikazano da kod pacijenata kod kojih je primena antibiotika trajala duže od osam dana je postojala manja verovatnoća za recidiv simptoma (18). Kao što je već navedeno u izolovanom materijalu pacijenata najviše su izolovane bakterije iz roda Enterobacteriaceae i E. Colli, ali problem je sve veća rezistencija na brojne antibiotike iz klase cefalosporina i fluorohinolona te su sve više u upotrebi antibiotici koji spadaju u tzv „zadnju liniju” kao što su linezolid i vankomicin (19).

1.5.1. Patogeneza i faktori procene bilijarne infekcije

Bakterijska kontaminacija kod holecistitisa se javlja veoma često a naročito kod kasnije otkrivenih slučajeva. Bakterijska kontaminacija je skoro uvek prisutna kod težih holecistitisa tj gangrenoznih, empijema žučne kese, nekroze zida i kod emfizematoznih holecistitisa što produžuje oporavak pacijenta i može dovesti i do sistemskih komplikacija. Rađene su brojne studije u kojima je određivana mikroflora u bilijarnom materijalu uzetom od pacijenata nakon holecistektomije. Najčešće izolovani mikroorganizmi pripadali su Gram negativnim anaerobima među kojima su Escherichia coli, Klebsiella spp., Acinetobacter baumani complex, and Enterobacter spp (20,21,22). Takođe je ispitivan uticaj fiziološke mikroflore u uticaju na inflamaciju. Poznato je da fiziološka mikroflora ima ulogu u bilijarnom metabolizmu kao i u formiranju kalkulusa (23,24). Smatra se da fiziološka mikroflora na dva načina dospeva u bilijarni trakt, ascedentno putem gastrintestinalnog trakta i hematogenim putem preko portalnog venskog sistema. U jednoj studiji (20) putem PCR-a je ustanovljeno da su predstavnici iz roda Enterobacteriaceae i E.Colli bili prisutni u najvećem broju u izolovanom bilijarnom materijalu kod pacijenata kod kojih je učinjena holecistektomija. U tabeli 2. su prikazani najčešće izolovani mikroorganizmi iz žuči pacijenata sa akutnom bilijarnom infekcijom (19)

Tabela 2. Izolovani mikroorganizmi u kulturi žuči uzete intraoperativno od pacijenata (19)

Izolovani mikroorganizmi iz kulture žuči	Procenat izolovanih mikroorganizama
Gram negativni mikroorganizmi	
Escherihia coli	31-44%
Klebsiella spp.	9-20%
Pseudomonas spp.	0.5-1.9%
Enterobacter spp	5-9%
Acinetobacter spp	-
Citrobacter spp	-
Gram pozitivni mikroorganizmi	
Enterococcus spp	3-34%
Streptococcus spp	2-10%
Staphylococcus spp	0
Anaerobi	4-20%
Ostali	-

1.5.2. Perforativni holecistitis i bilijarni peritonitis

Perforacija žučne kese praćena razvojem difuznog peritonitisa predstavlja jednu od najozbiljnijih komplikacija upale žučne kese i praćena je povišenim mortalitetom i morbiditetom. Procenjuje se da između 2 i 11% holecistitisa dovodi do perforacije (27). Prolongirana inflamacija i kasno otkrivanje obično dovode do nastanka perforacije. Najčešće mesto perforacije je na fundusu žučne kese (28). Procenjuje se da letalni ishod može nastati čak I do 42% pacijenata (29,30). Niemer je još 1934. klasifikovao sledeće tipove perforacije: Tip I koji predstavlja akutnu perforaciju u abdominalnu duplju, tip II subakutnu perforaciju sa formiranjem apscesa I tip III koji predstavlja hroničnu perforaciju

sa fistulizacijom u drugi organ. Manifestuje se izraženim difuznim bolovima u trbuhu, uz izraženu leukocitozu i poremećajem opšteg stanja. Dijagnostički se može potvrditi ehosonografskim pregledom, ili pak CT abdomena i u ređim slučajevima scintigrafijskim ispitivanjem. U slučaju perforacije indikovano je hitno operativno lečenje. U nekim studijama je pokazano da je kod pacijenata kod kojih je učinjena holecistektomija u prvih 24 sata bilo manje komplikacija i prijema u jedinicu intenzivne nege (31).

1.5.3. Profilaktički tretman antibioticima

Pitanje profilaktičke primene antibiotika kod tretmana akutnog holecistitisa je još uvek kontroverzno i standardi lečenja i primene antibiotika se razlikuju od zemlje do zemlje. Problem predstavlja pitanje da li je svaki akutni kalkulozni holecistitis jednako infekcija, kao i sve veća rezistencija izolovanih mikroorganizama što za sobom povlači primenu antibiotika zadnje linije, kao i da li treba rutinski od svakog pacijenta uzimati uzorak žuči za mikrobiološku analizu (25). Smatra se da kod blažih oblika holecistitisa nije potrebno uzorkovanje žući, dok se kod ozbiljnijih slučajeva akutnog holecistitisa savetuje uzimanje uzoraka zbog veće verovatnoće bakterijske kontaminacije. Sledeći problemi u primeni antibiotika su njihov adekvatan izbor kao i dužina trajanja tretmana. Izbor antibiotika postaje sve veći problem zbog sve veće rezistencije. S obzirom da su najčešće izolovane bakterije iz roda *Enterobacteriaceae*, u tabeli 3. su predstavljeni antibiotici prema kojima je razvijena najveća rezistencija. Zbog malog broja dostupnih studija još uvek je primena antibiotika uskladjena sa kliničkim nalazom i individualnim mišljenjem kliničara ali neka istraživanja pokazuju da njihova primena samo povećava cenu lečenja kao i izraženu razvitak rezistencije mikroorganizama (26).

Tabela 3. Pregled antibiotika prema kojima postoji najveća rezistencija roda *Enterobacteriaceae* (19)

Klasa antibiotika	Antibakterijski agensi
Penicilini	Ampicilin/sulbactam
Cefalosporini	Cefazolin
	Cefuroksim
	Cefotiam
	Cefoxitin
	Cefmetazol
	Flomoxef
Fluorohinoloni	Ceftriakson/Cefotaksim
	Ciprofloksacin
	Levofloksacin
	Moksifloksacin

1.6 Operativno lečenje

1.6.1 Indikacije i timing za operaciju

Još uvek postoje kontroverzna mišljenja vezana za odloženo i rano operativno lečenje. Međutim danas je sve više prihvatljivo da se rade rane holecistektomije u periodu između 48 i 72 sata od prijema pacijenta i sa potvrđenim holecistitisom. U jednoj većoj randomizovanoj studiji u dva centra u SAD je ispitivano da li postoji veći broj komplikacija kod pacijenata kod kojih je učinjena laparoscopska holecistektomija u toku dana ili u toku noći (32). Utvrđeno je da su pacijentu kod kojih je učinjena laparoscopska holecistektomija u toku noći imali brži oporavak, ali je postojao veći procenat konverzija, bez pojave većeg broja komplikacija (32).

1.6.2. Operativni tretman kod holecistitisa

S' obzirom da je holecistolitijaza u preko 90 % slučajeva bila uzročnik epizode holecistitisa, operativno lečenje predstavlja jedino dugoročno kurativno rešenje. Holecistektomija može biti klasična odnosno otvorena i laparoskopska.

1.6.2.A. Otvorena(klasična) holecistektomija

Otvorena holecistektomija se danas obično primenjuje u slučaju konverzije laparoskopske procedure kada postoje kompleksni tehnički problemi koji otežavaju vizuelizaciju, nalaz kod koga je prepoznavanje anatomskih struktura (otok žučne kese, gangrenozna žučna kesa, patološki holangiogram) ili ozbiljnije komplikacije (lediranje creva, većih krvnih sudova i d.choledochusa) (33). Tehnički se koriste dva pristupa u otvorenoj holecistektomiji, retrogradni koji se najčešće primenjuje i anterogradni (34).

a). Retrogradni pristup Kod retrogradnog pristupa prvo je neophodno učiniti inciziju visceralnog peritoneuma koji obuhvata fundus žučne kese. Zatim se medijalno i lateralno odvaja peritoneum što omogućava potpunu mobilizaciju žučne kese. Navedena preparacija je obično avaskularna ali se mogu naći manji venski krvni sudovi koje je neophodno ligirati i koji su obično izraženi u slučajevima portne hipertenzije i distenzije žučne kese (34). Intenzivnije krvarenja se obično javljaju u slučaju kada je lediran parenhim jetre.

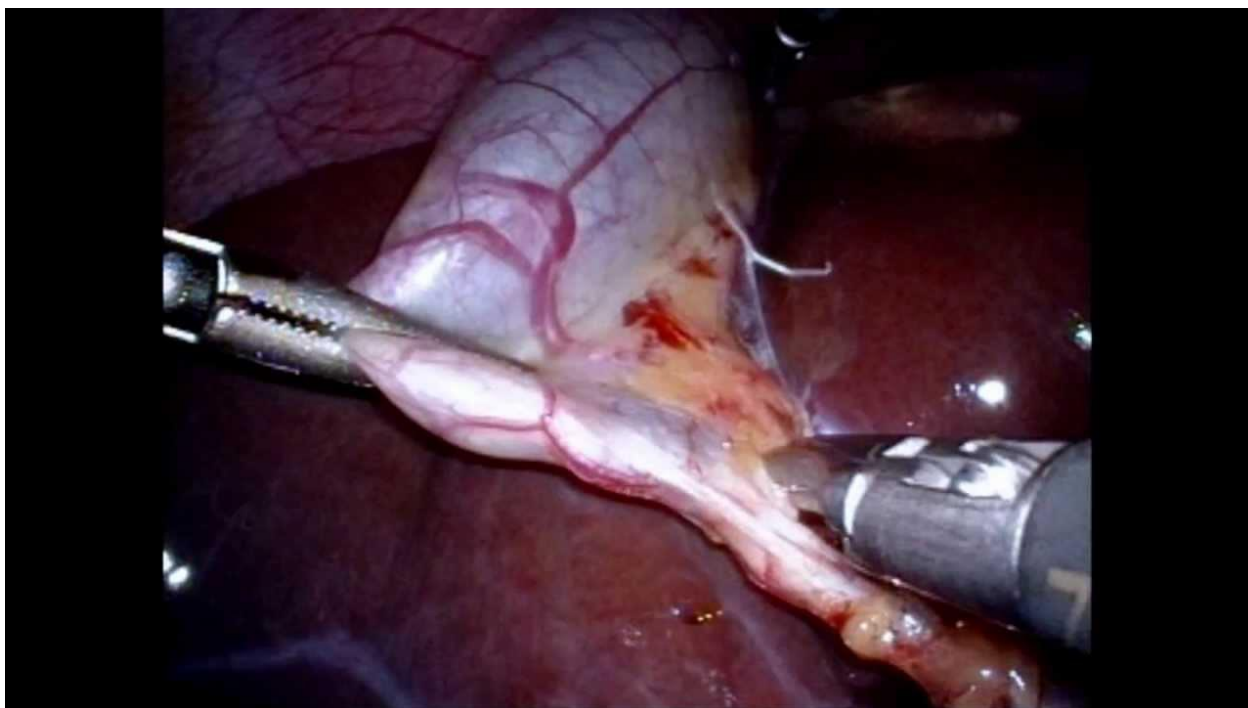
b). Anterogradni pristup U slučaju anterogradnog pristupa, najznačajniji deo operacije je usmeren prema porti hepatis. Neophodno je odvojiti fundus žučne kese i na taj način prikazati structure Calot-ovog trougla (34). Zatim se ligiraju d.cysticus i a.cystica. Savetuje se da se pre ligiranja d.cysticusa izvrši palpacija i zaostali kalkulusi vrata u lumen žučne kese (34). Zatim se žučna kesa izljušti iz svoje lože kao i kod retrogradnog pristupa.

1.6.2.B. Laparoskopska holecistektomija

Danas je laparoskopska holecistektomija postala metod izbora kao definitivni i kurativni tretman pacijenata sa holecistolitijazom. U daljem tekstu biće predstavljen kratak istorijat

laparoskopske hirurgije, tehnika i odnos laparoskopska holecistektomija/otvorena holecistektomija.

Istorijat. U odnosu na mesto koje minimalno invazivna hirurgija ima danas, laparoskopija je incijalno imala znatno manju podršku u hirurškim krugovima, a mnogo veću kod ginekologa, naročito kod nemačkog lekara i inženjera Kurta Semm-a (35) koji je počeo da vrši laparoskopske miomektomije, ovariektomije i adneksektomije. Međutim do 1982. kada je Semm učinio prvu laparoskopsku apendektomiju, laparoskopija dobija značaj i u opštoj hirurgiji. Semm-ov kolega Erich Mühe je postao zainteresovan za novu tehniku te je najzad 1985. učinio prvu laparoskopsku holecistektomiju nakon što je napravio instrument za adekvatnu vizuelizaciju žučne kese (Galloscope) gde je pneumoperitoneum formirao pomoću Veress-ove igle. Operacija je trajala dva sata. Ono što je dodatno povećalo interesovanje za laparoskopiju je i značajno brži postoperativni oporavak pacijenata.



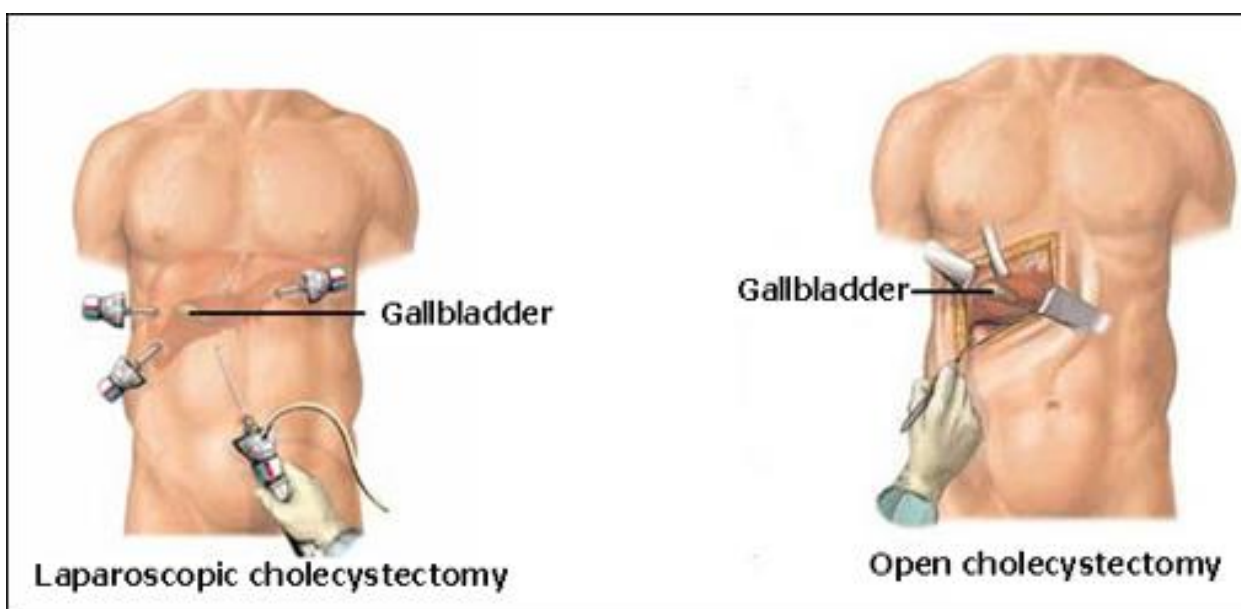
Slika 9. Intraoperativni nalaz prilikom laparoskopske holecistektomije

Tehnika i pozicioniranje. Neophodno je pre početka operacije da operator ima jasnu i adekvatnu poziciju prema monitoru i ka CO₂ insuflatoru kako bi mogao da prati intraabdominalni pritisak i protok gasa (33). Neophodno je palpirati abdomen kako bi se isključilo postojanje prethodno neotkrivene intrabdominalne mase. Pneumoperitoneum se može formirati pomoću Veress-ove igle ili otvorenom Hasson-ovom tehnikom. U slučaju da se koristi Veress-ova igla, učini se jedna manja horizontalna incizija zida abdomena u projekciji pupka a zatim se plasira Veress igla i formira pneumoperitoneum. Ukoliko postoji ožiljak od prethodne laparotomije, savetuje se uvođenje Veress ove igle u gornjem odnosno donjim kvadrantima abdomena (33).

Kod Hasson-ove otvorene tehnike se takođe učini incizija u projekciji pupka, identifikuje se fascija koja se zauzdava šavovima, zatim se digitalno eksploriše zbog provere da li je incizija učinjena do intraperitonealnog prostora, a zatim plasira ulazni port sa tupim vrhom, nakon čega se uvodi dovod gasa i formira pneumoperitoneum. Nakon uvođenja optičkog instrumenta kroz umbilikalni port, plasiraju se tri dodatna porta. Drugi 10 mm port se plasira u epigastrijum oko 5 cm ispod ksifoida, koji bi trebalo da prođe kroz desnu stranu falciformnog ligament. Neki hirurzi plasiraju 5 mm port na ovo mesto (33). Dva manja porta od 5 mm se zatim plasiraju, jedan u desnom gornjem kvadrantu u blizini medioklavikularne linije nekoliko santimetara ispod rebarne margine i još jedan sasvim lateralno u nivou umbilikusa. Lediranje većih krvnih sudova ili drugih organa prilikom plasiranja porta predstavlja indikaciju za konverziju ili za primenu naprednije laparoskopske tehnike (33).

Dobre i loše strane laparoskopije. Laparoskopska hirurgija iako sama po sebi minimalno invazivna i u većini slučajeva značajno skraćuje postoperativni oporavak ima i svoje lošije strane na koje je neophodno obratiti pažnju. Pored više cene instrumenata i dodatne opreme, zahteva izuzetnu obučenost čitavog hirurškog tima. Neophodna je svest operatora da nema direktnu vizuelizaciju anatomskih struktura već da se celokupna vizuelizacija bazira na prepoznavanju struktura na monitoru. Druga stvar je u nekim slučajevima obično kod velikih operacija duže trajanje operacije koja je takođe u vezi sa stručnošću operatora

ali i adekvatnoj vizuelizaciji anatomskih struktura. Prednosti laparoskopije u odnosu na otvorenu hirurģije su znatno manji gubici u krvi, manja šansa javljanja infekcija rane i postoperativnih incizionih kila, kao i brži postoperativni oporavak. Zaključak bi bio da je neophodna kontinuirana edukacija čitavog hirurškog i anesteziološkog tima u boljem razumevanju dinamike laparoskopskih operacija, što bi kao krajnji rezultat imalo adekvatan i brz oporavak pacijenata sa manjim procentom recidiva i ponovnih prijema na hospitalno lečenje.



Slika 10. Šematski prikaz laparoskopske i otvorene holecistektomije

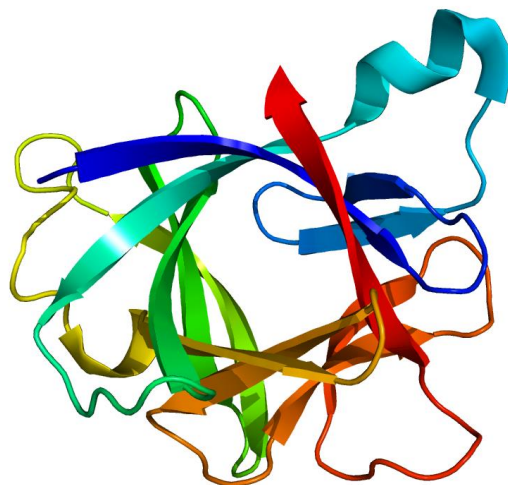
1.7 Uloga interleukina u praćenju inflamatornog odgovora kod upale žučne kese

Interleukini predstavljaju citokine koji deluju prevashodno na leukocite. Međutim otkriveno je da se interleukini stvaraju i utiču i na druge vrste ćelija koje nisu deo imunskog sistema. Većinu sintetišu CD 4 „helper“ limfociti, ali i druge ćelije imunskog sistema kao su makrofazi, monociti i ćelije endotela. Interleukini imaju ključnu ulogu u diferencijaciji i stvaranju T i B limfocita kao i ćelija hematopoeze. U brojnim studijama je pokazana razlika

u njihovoj koncentraciji i patofiziologiji kod holecistitisa kao i u razlikama u njihovom stvaranju u odnosu na to da li je kod pacijenta učinjena laparoskopska ili otvorena holecistektomija te će biti objašnjena i njihova prediktivna vrednost kod holecistitisa.

1.7.1 Interleukin 1b

Grupa interleukina 1 spada u citokine koje prvenstveno stvaraju aktivirani mononuklearni fagociti i čija je glavna funkcija da posreduje u zapaljenskoj reakciji u urođenoj imunosti.



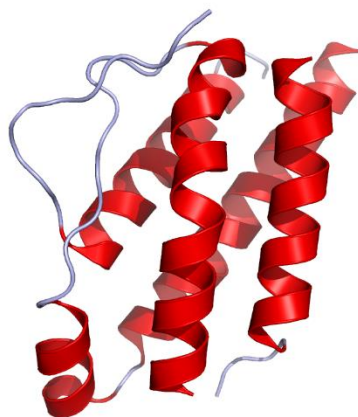
Slika 11. Struktura IL 1b

Kodiran je preko Il-1b gena (36). Postoje dva oblika (IL-1 α i IL-1 β). Oba oblika se vezuju za iste receptore i imaju ista biološka dejstva, uključujući indukciju adhezivnih molekula na endotelnim ćelijama, stimulaciju endotelnih ćelija i makrofaga da stvaraju hemokine, stimulaciju da sintetišu reaktante akutne faze kao i izazivanje febrilnosti. Sam IL-1 β se proizvodi od strane makrofaga kao proprotein, koji se kasnije aktivira nakon reakcije sa enzimom kaspaza 1, i utiče na ćelijsku diferencijaciju, proliferaciju i apoptozu, kao i jedan od induktora u stvaranju ciklooksigenaze 2 (COX 2). Kao i drugi interleukini, IL 1 je sintetisan kao monoklonsko antitelo Canakinumab, koje se koristi za tretman nekih CAPS (Cryopyrin-associated periodic syndrome) (37). U jednoj studiji su ispitivane vrednosti IL 1 β , IL-6 i IL-8 kod pacijenata sa epizodom akutnog holecistitisa. Utvrđeno je da su njihove vrednosti bile značajno više u odnosu na zdrave osobe. Takođe je ispitivana

korelacija njihovih vrednosti sa težinom kliničke slike i održavanje vrednosti u periodu od početka tegoba gde je ustanovljeno da su se vrednosti IL 8 i IL 1 β održavale na visokim vrednostima tokom 4-6 dana te da bi mogli da budu potencijalni stabilni markeri u određivanju težine inflamacije kod akutnog holecistitisa (38).

1.7.2 Interleukin 2

Interleukin 2 (IL-2) predstavlja citokin koji stvaraju antigenom aktivirane T ćelije i koji deluje autokrino stimulišući proliferaciju T ćelija, a takođe potencira rast i otpornost regulatornih T ćelija (39). Deo je grupe koja u svojoj strukturi ima četiri alfa heliksa, u koju pored IL 2 spadaju i IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 and IL-21. IL 2 prenosi signale ćeliji preko IL-2 receptora koji se sastoje iz tri subjedinice, alfa, beta i gama. Gama lanac sadrže receptori svi članova ove grupe(40).



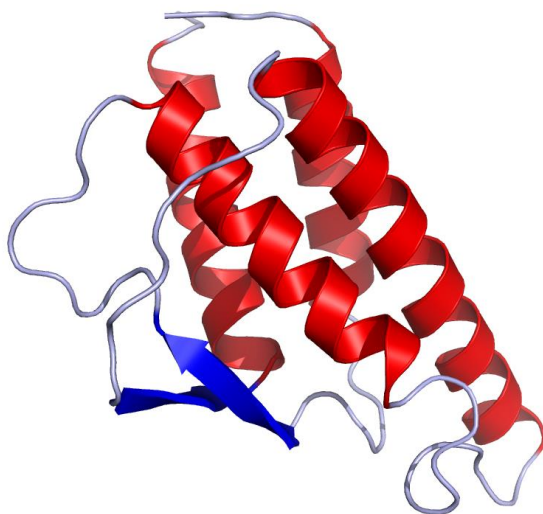
Slika 12. Struktura IL 2

Zbog navedenih funkcija, IL-2 je neophodan kako za indukciju tako i za regulaciju imunog odgovora koji je posredovan T ćelijama. Pored uticaja na T ćelijski posredovan imuni odgovor, IL-2 ima ulogu u stimulaciji, proliferaciji i diferencijaciji NK (natural killer) ćelija i B ćelija (39). Takođe, putem rekombinacije DNK sintetisano je artifičijelno antitelo IL-2 pod nazivom aldesleukin koje ima primenu u tretmanu nekih leukemija i limfoma, ali se zbog brojnih neželjenih efekata mora primenjivati u hospitalnim uslovima. U jednom

prikazu slučaja opisan je pacijent koji je zbog maligne bolesti bubrega tretiran IL 2 analogom Prilikom ehosonografskog ispitivanja uočeno je zadebljanje zida žučne kese koje se javlja najčešće kod holecistitisa, što može dovesti do pogrešno donesene dijagnoze što dalje vodi bespotrebnoj hirurškoj intervenciji kao i riziku operativnog lečenja (41).

1.7.3 Interleukin 4

Interleukin 4 (IL-4) predstavlja citokin koji najviše stvara Th 2 ćelijska subpopulacija CD 4 „helper“ limfocita čija je osnovna funkcija da pokrene diferencijaciju TH 2 ćelija od CD 4 prekursora, da stimuliše B ćelije u stvaranju IgE antitela i IgG1 kao i da suprimira funkcije makrofaga koje zavise od posredovanja interferona γ .(36). Po svojoj strukturi IL 4 poseduje globularnu formu koja je stabilizovana sa tri disulfidne veze(42).



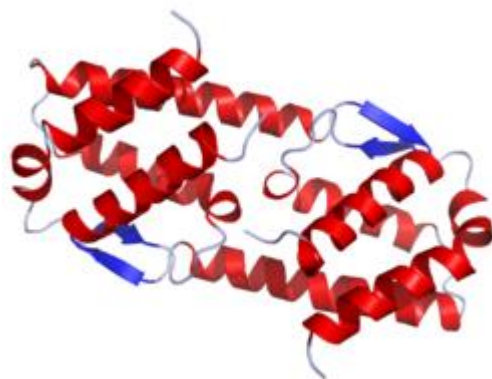
Slika 13. Struktura IL 4

Signali koji omogućavaju navedeni efekat IL-4 se prenose preko IL-4R α receptora i postoje četiri podtipa IL-4R α . Takođe je u studiji koji su uradili Hosoyama T. i saradnici utvrdili uticaj IL-4 u razvoju i metastaziranju rabdomyosarkoma(43). Prisustvo IL-4 u ekstravaskularnim tkivima stimuliše aktivaciju M2 „repair“ makrofaga kao i pojačanu sekreciju IL-10 i TGF- β i zbog toga ima značajnu ulogu u zarastanju rana i hroničnoj inflamaciji (44). Obzirom da otvorene hirurške procedure mogu dovesti do izražene imunosupresije, sve više se ispituje sistemski imunološki odgovor kod minimalno

invazivne hirurgije. U studiji koja je obuhvatila pacijente kod kojih je učinjena laparoscopska holecistektomija ispitivana je promena vrednosti IL-4, IL-10 i intracelularnog IFN- γ gde je pokazano da nije došlo do značajnijih postoperativnih vrednosti IL-4 i IL-10 što ukazuje da minimalno invazivna hirurgija ima manji traumatski efekat ali bez određenog efekta na T ćelijski INF- γ , IL-4 i IL-10 (45).

1.7.4 Interleukin 5

Interleukin 5 predstavlja citokin koji sekretuju Th2 T helper ćelije i mastociti. Svoj efekat ispoljava putem IL-5 receptora. Ima značajnu ulogu u uticaju na rast i razvoj B limfocita i samim tim na veću produkciju antitela. IL-5 receptor se sastoji od alfa i beta subjedinice (46). Alfa jedinica je specifična za sam IL-5 dok se za beta subjedinicu može vezati i IL-3 i GM CSF hematopoetski faktor (46,47).

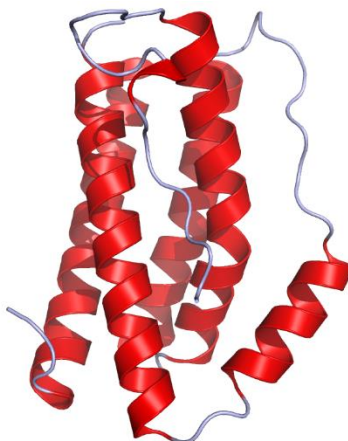


Slika 14. Struktura IL-5

IL-5 se sastoji od 115 aminokiselina i za razliku od drugih citokina u svojoj aktivnoj formi je homodimer (48) i informacija za sintezu IL 5 se nalazi na petom hromozomu. Interleukin 5 je povezan sa nastankom ozbiljnih alergijskih reakcija kao i astmatičnih statusa gde je kod navedenih poremećaja primećena njegova povišena koncentracija u perifernoj krvi (49), a takođe i na uticaj u stvaranju većeg broja eozinofila u alergijskim reakcijama kao i kod nekih oboljenja limfopoetskog sistema kao što je Hodgkin-ova bolest (50). Takođe je sintetisano monoklonsko antitelo Mepolizumab koje antagonizuje uticaj IL-5 na stvaranje eozinofila.

1.7.5 Interleukin 6

Interleukin 6 (IL-6) stvaraju brojni tipovi ćelija kao što su aktivirani mononuklearni fagociti, endotelne ćelije i fibroblasti. Ima ulogu u stečenoj i urođenoj imunosti na taj način što stimuliše sintezu proteina akutne faze od strane hepatocita i podstiče rast B limocita koji proizvode antitela (36).



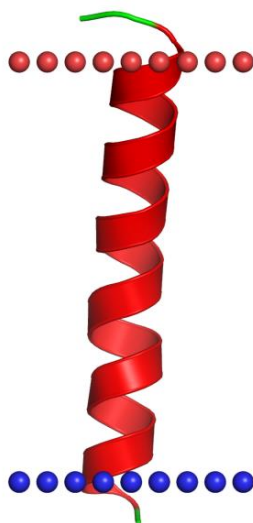
Slika 15. Struktura IL-6

Značajan je medijator u akutnoj fazi inflamacije, poseduje sposobnost prolaska krvno moždane barijere, dolazi do hipotalamusa koji stimuliše da sekretuje PgE2 što dovodi do povišenja telesne temperature. Svoje dejstvo IL-6 ispoljava preko IL-6 receptora koji se sastoji od IL 6 receptorske subjedinice i IL-6 prenosioca signala (glikoproteina 130) poznatijeg i pod nazivom CD 130. CD 130 je prenosnik signala koji dolazi od drugih hemokina kao što su LIF (leucaemia inhibitory factor), CNF (ciliary neurotropic factor), oncostatin M, IL-11 i kardiotropin 1. Takođe IL-6 ima ulogu i stimulaciji rada osteoklasta tako što ga sekretuju osteoblasti, i inflamacije u glatkim mišićnim ćelijama. Neadekvatno stvaranje IL-6 ili poremećaj na nivou receptora može dovesti do razvoja mnogih bolesti, među kojima su multipli mijelom (51), dijabetes (52), ateroskleroza (53), karcinom prostate (54), Kaposi sarcom (55) i neke autoimunske bolesti. IL 6 svrstava u medijatore akutne faze zapaljenja i fiziološkog odgovora na traumu i njegov porast često korelira sa povišenim

mortalitetom i morbiditetom nakon traume ili hirurške intervencije (56) .U jednoj studiji je ispitivana promena vrednosti IL-6 i CRP-a kod pacijenata kod kojih je učinjena single port laparoskopna hoelcistektomija i kod onih koji su operisani sa više portova. Utvrđeno je nakon određivanja vrednosti da je kod pacijenata koji su „single port“ laparoskopni operisani prisutan manji inflamatorni odgovor ali bez značajnije korelacije sa kliničkim morbiditetom (56).

1.7.6 Interleukin 9

Interleukin 9 (IL-9) je pleotropni interleukin koji svoje dejstvo ispoljava na limfocitima, mastocitima , hemopoetskim ćelijama, respiratornom epitelu i glatkoj mišićnoj muskulaturi bronha.

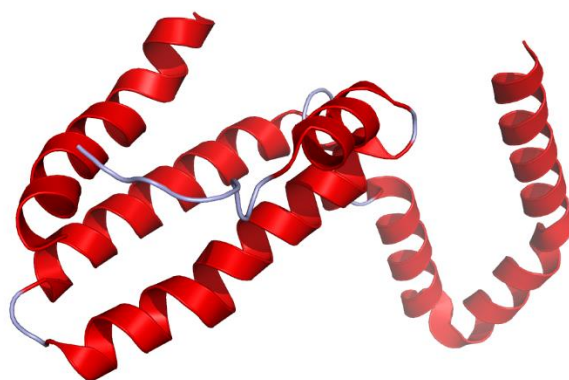


Slika 16. Struktura receptora za IL- 9

Svoje dejstvo eksprimira preko IL-9 receptora poznatiji i pod nazivom CD 129, i spada u tip 1 citokinske receptore. Najčešće se njegovo dejstvo povezuje u astmatičnoj reakciji (57) kao i antiparazitarnom dejstvu (58) ali se pretpostavlja i da ima ulogu u Th1/Th17 I Treg reakcijama. Glavni sekretori IL 9 su T limfociti, faktori koji utiču na sekreciju su trenutno nedovoljno ispitani ali se pretpostavlja da više citokina utiče na produkciju IL-9.

1.7.7 Interleukin 10

Interleukin 10 (IL-10) je po svojoj strukturi homodimer čije se subjedinice sastoje od 178 aminokiselinskih parova. Spada u klasu 2 citokina, u koju spadaju IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 (Mda-7), IL-26, interferoni (IFN-alpha, -beta, -epsilon, -kappa, -omega, -delta, -tau, and -gamma) interferonima slični molekuli. (limitin, IL-28A, IL-28B, and IL-29). Stvaraju ga aktivirani makrofazi I neki T helper limfociti, čija je glavna funkcija da inhibira aktivirane makrofage I time održi homeostatsku kontrolu urođene I stečene imunosti (59). Njegova funkcija se ispoljava tako što smanje ekspresiju Th 1 citokina i MHC II antigena. IL-10 takođe oslobađaju T citotoksični limfociti čime se smanjuje efekat NK ćelija u visunim infekcijama.



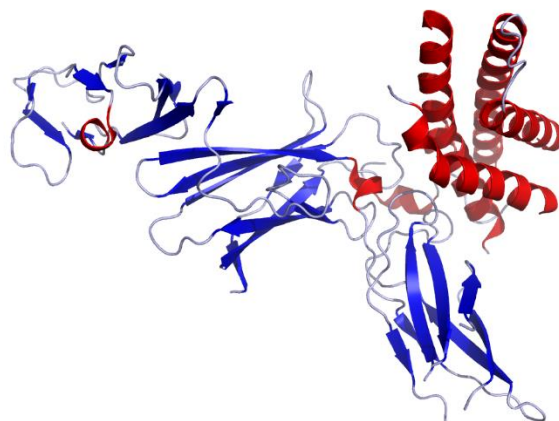
Slika 17. Struktura IL-10

U nekim studijama je pokazano se vrednosti IL 10 povećavaju u toku fizičke aktivnosti putem miokina (60) i smanjenju vrednost kod pacijenata obolelih od multiple skleroze (61). U jednoj novijoj studiji ispitivano je povećanje vrednosti IL-1b, IL-1ra, IL-6, IL-8, IL-10 I CRP kod pacijenata kod kojih je učinjena holecistektomija laparoskopski I kod onih kod kojih je učinjena putem mini laparotomije (62). Vrednosti su merene preoperativno, neposredno nakon operacije i šest sati nakon operacije. Utvrđeno je da je inflamatorni odgovor bio sličan i kod jedne i kod druge grupe, i da su vrednosti IL-8, IL-10 I IL-1b nisu

pokazale statistički značajnu razliku u obe grupe. Vrednosti IL 6 su bile više kod grupe kod koje je učinjena holecistektomija putem mini laparotomije.

1.7.8 Interleukin 12 p70

Interleukin 12 (IL-12) je po svojoj strukturi heterodimerski citokin koji se sastoji iz dve subjedinice, IL-12A (p35) I IL-12 B(p40). Aktivni heterodimer IL 12 je „p70” . Stvaraju ga mononuklearni fagociti I dendritske ćelije.



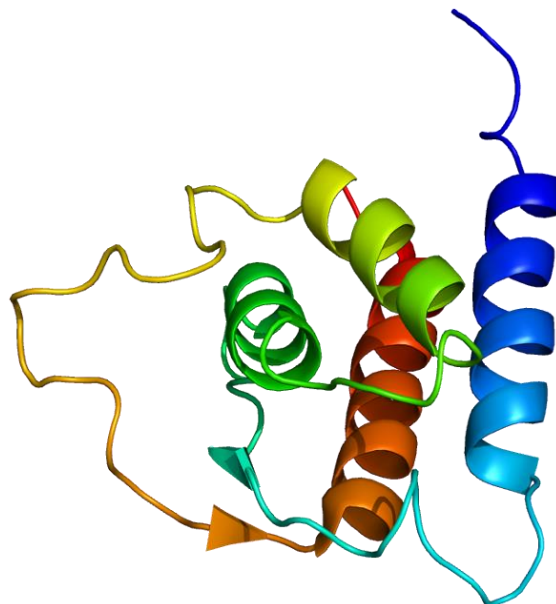
Slika 18. Struktura IL-12

Služi kao medijator odgovora urođene imunosti na intracelularne mikroorganizme I kao ključni induktor celularnog imunskog odgovora na njih (63). IL-12 aktivira NK ćelije, pokreće stvaranje $INF\gamma$ I citotoksičnih T limfocita kao I pokretanje Th1 ćelij putem JAK-STAT signalnog puta.

1.7.9 Interleukin 13

Interleukin 13 (IL-13) predstavlja citokin koji najviše proizvode aktivirane Th 2 ćelije. IL-13 ima ulogu u nekoliko stadijuma maturacije i diferencijacije B ćelija. Dejstvo ispoljava tako što podstiče ekspresiju MHC II I CD-23, a takođe ima značajnu ulogu u diferencijaciji

B ćelija da proizvode IgE antitela koja su ključna u anafilaksi. Pored navedenih IL-13 negativnom povratnom spregom utiče na aktivnost makrofaga, i time smanjujući stvaranje proinflammatoryh citokina.

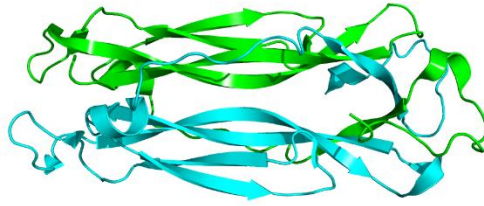


Slika 19. Struktura IL-13

Potvrđeno je da IL 13 ima značajnu ulogu u allergen zavisnoj bronhijalnoj astmi (64) ali svoje dejstvo ispoljava nezavisno od eozinofila I IgE antitela.

1.7.10 Interleukin 17

Grupa Interleukina 17 čine IL-17a, IL 17b, IL-17c, IL-17d, IL-17e, IL-17f (poznatiji pod nadzivom IL-25), od kojih IL-17 A ima vodeću ulogu u proinflammatoryh reakcijama naročito odloženih, tako što mobilise monocite i neutrofile na mesto inflamacije i deluje sinergistički sa $TNF\alpha$ I IL-1. Pored navedenih IL-17 ima ulogu u indukciji stvaranja i drugih citokina kao što su IL-6, G-CSF, GM-CSF, IL-1 β , TGF- β , TNF- α . Po svojoj strukturi IL 17 je glikoprotein homodimer gde su jedinice povezane disulfidnim vezama.

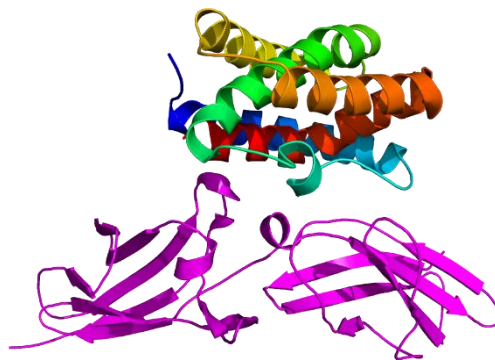


Slika 20. Struktura IL- 17

Najviše ga stvaraju Th 17 CD 4 T helper limfociti. Dokazano je takođe da IL-17 ima ulogu i u nastanku nekih autoimunskih oboljenja kao što su psorijaza (65), lupusa (66).

1.7.11 Interleukin 22

Interleukin 22 (IL 22) spada u grupu interleukina IL 10 zajedno sa IL-19, IL-20, IL-24, i IL-26. Ima ulogu u iniciranju mehanizama urođene imunosti protiv bakterijskih patogena naročito u plućnom tkivu i u gastrointestinalnom traktu.

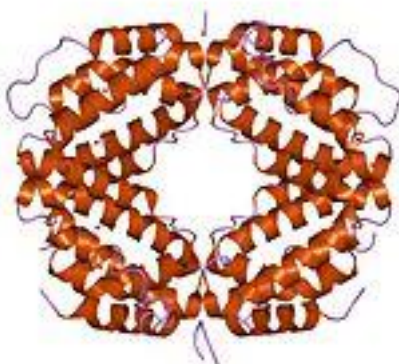


Slika 21. Struktura IL-22

Po svojoj strukturi, IL-22 je α -helikal citokin, a svoj mehanizam dejstva IL-22 ispoljava tako što se vezuje za heterodimerični receptor na ćelijskoj površini koji se sastoji od IL-10R2 i IL-22R1 pođedinica (67).

1.7.12 Interferon gama (IFN γ)

Interferon gama spada u grupu 2 interferona, po svojoj strukturi IFN- γ monomer se sastoji od osnove sa šest α -heliksa i proširene ne-savijene sekvence u C-terminalnom regionu. Veoma je značajan u aktivaciji mehanizama urođene i stečene imunosti, protiv virusa, bakterija i parazita.



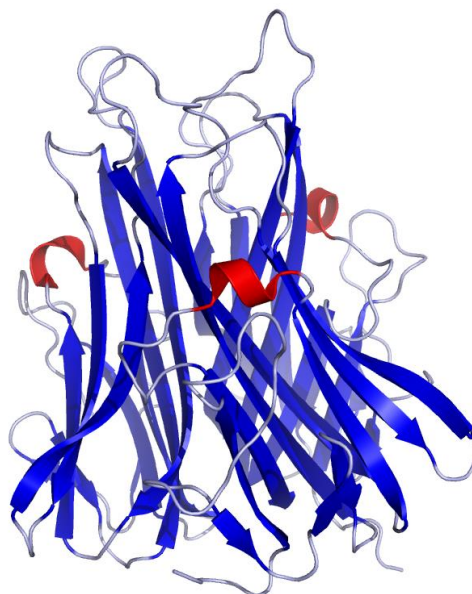
Slika 22. Struktura IFN γ

IFN- γ je odgovoran za: Povećana antigen prezentacija makrofaga, aktivira i povećava lizozom aktivnost u makrofagama, umanjuje aktivnost Th2 ćelija, utiče na ekspresiju MHC II, promoviše adheziju i vezivanje neophodno za migraciju leukocita, aktivnost NK ćelija, aktivira APC ćelije, i promoviše Th1 diferencijaciju, aktivira inducibilnu NO sintetazu iNOS (36). U studiji u kojoj su određivane vrednosti IFN γ , IL 4, IL 6 I IL 10 kod pacijenata nakon laparoskopske holecistektomije je pokazano da su postoperativno samo bile povišene vrednosti IL 6 ali bez značajnijih promena u vrednosti IFN γ što dodatno govori u prilog smanjenoj trauma koju laparoskopska hirurgija nosi u odnosu na otvorenu (45).

1.7.13 Tumor necrosis factor alpha (TNF α)

Slika 23. Struktura TNF α

TNF α spada u citokine, i njegova glavna uloga je u sistemske inflamaciji na taj nacin što regulise akutnu fazu zapaljenja. Najviše ga proizvode makrofazi, i u određenoj meri i CD4 limfociti, NK ćelije, mastociti, eozinofili i neuroni. Spada u endogene pirogene, i indukuje apoptozu, groznicu i inhibiciju tumorogeneze.



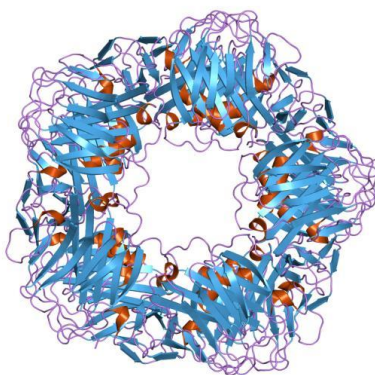
Slika 23. Struktura TNF α

Po svojoj strukturi TNF se prvenstveno proizvodi kao 212-aminokiselina-dugačak tip II transmembranski protein koji formira stabilne homotrimere. Iz ove forme integrisane u membranu, rastvorni homotrimerni citokin (sTNF) se formira putem proteolitičkog odsecanja metaloproteazama TNF-alfa konvertujućim enzimima (TACE). Kao i kod drugih citokina utvrđeno je u da je njegovo stvaranje smanjeno kod pacijenata kod kojih je učinjena laparoscopska holecistektomija u odnosu na one koji su operisani otvorenom tehnikom (68).

1.7.14 C reaktivni protein (CRP)

C-reaktivni protein (CRP) je protein koji se stvara u jetri, čija je povećana koncentracija u serumu direktno povezana sa postojećom inflamacijom u telu. Otkrio ga je Oswald Avery u toku studije u kojoj se ispitivao pacijente zaražene streptococcus-om pneumoniae. Zbog brzog rasta vrednosti u serumu CRP se pokazao kao koristan biomarker akutnog zapaljenja.

Struktura Po svojoj strukturi, CRP se sastoji od pet identičnih nekovalentno povezanih protomera povezanih oko centralne pore (69). Svaki protomer sadrži mesto za prepoznavanje fosfokolina koje se sastoji od dva jona kalcijuma povezanih u hidrofobni „dzep“ . Suprotnu stranu čine mesta za vezivanje C1q komplementa i Fcγ. Mesto za vezivanje se prostire između protomera i centralne pore pentamera.



Slika 24. Struktura C-reaktivnog proteina

Ekspresija. CRP gen se nalazi na kraćem kraku prvog hromozoma. Indukcija stvaranja CRP u hepatocitima je primarno regulisana nivoom transkripcije koji zavisi od interleukina 6 i interleukin 1 β (70) . Oba navedena interleukina zasebno kodiraju različite sekvence za ostale proteine akutne faze kao što su fibrinogen i serumski amiloid A. Takođe, potvrđeno je da se CRP stvara i ekstrahepatično u manjoj količini u neuronima, aterosklerotskim plakovima, monocitima i limfocitima. Mehanizmi regulacije stvaranja CRP ekstrahepatično su trenutno nepoznati i pretpostavlja se da ne utiču značajno na serumsku koncentraciju

CRP. Svoju funkciju CRP ispoljava preko CRP receptora koji su otkriveni kao posebni u odnosu na receptore za IgG, FcγRII i FcγI. Utvrđeno je da postoje stimulatorni i inhibitorni FcγR receptori. Kod stimulatornih FcγR receptora induktivna sekvenca se kodira preko ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) sekvence dok kod inhibitornih preko ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif). U in-vitro uslovima, pokazano je u nekim studijama da se fagocitoza CRP opsonizovanih ćelija i partikula odvija preko FcγRI receptora, čak i u odsustvu sistema komplementa.

Dejstvo i uloga CRP kao biomarkera inflamacije. Kod zdravih ljudi, CRP retko ne prelazi 2 µg/ml. U nekim studijama je pokazana povezanost lako povišene vrednosti CRP-a i nastajanja metaboličkog sindroma, tumora debelog creva i kardiovaskularnih oboljenja (71), međutim lako povišene vrednosti CRP takođe mogu perzistirati kod nekih hroničnih zapaljenja i nekih nezapaljenskih bolesti i kod genskih polimorfizama. Poznato je da u nekim slučajevima vrednost CRP-a može imati vrednosti i preko 1000 U/L, što je posledica pojave akutnog zapaljenja i pojačanog lučenja od strane hepatocita. Sama akutna faza zapaljenja dovodi do povećanog stvaranja preko 40 poznatih proteina akutne faze dok istovremeno dovodi do smanjenja vrednosti nekih proteina, naročito albumina. U grupu proteina akutne faze spadaju još i faktori koagulacije, protease, sistemi komplementa i drugi. Kao i drugi medijatori inflamacije, CRP može imati kako pro tako i antiinflamatorna dejstva. Pokazano je u nekim in vivo studijama da CRP indukuje stvaranje antagonista IL-1 receptora i IL-10 i dovodi do smanjenog stvaranja INFγ dok u proinflamatorne efekte spada aktivacija sistema komplementa i pojačanje fagocitoze, reguliše ekspresiju gena adhezionih molekula endotelnih ćelija, inhibira stvaranje endotelne NO sintetaze, stimuliše oslobađanje IL 8 kao i stvaranje IL 1, IL 6, IL 18 i TNF α. (71). U jednoj novijoj studiji je ispitivana da li je vrednost CRP-a i godište pacijenta prediktorna za konverzije iz laparoscopske u otvorenu holecistektomiju. Studija je obuhvatila 261 pacijenta od kojih je konverzija učinjena kod 62 slučaja, najviše zbog nejasne anatomije uzrokovane inflamatornih promenama. Pokazana je statistička značajnost u povezanosti navedenih faktora sa verovatnoćom konverzije, te da su u navedenoj studiji CRP i godište nezavisni prediktorni parametric (72).

1.7.14 Faktor transformacije rasta beta (TGF β)

Faktor transformacije rasta beta (transforming growth factor beta) predstavlja multifunkcionalni citokin koji pripada porodici TGF β grupi citokina u koju spadaju TGF β 1, TGF β 2 I TGF β 3. Stvaraju ga mnoge vrste ćelija kao što su makrofazi, i u svojoj latentnoj formi je vezan za dva druga polipeptida LTBP (latent TGF β binding protein) i LAP (latency associated protein). Aktivaciju TGF β podstiču serumske proteinaze. Ovaj proces se obično dešava na površini makrofaga gde se inaktivni TGF β kompleks vezuje za CD 36 putem svog liganta TSP-1 (trombospondin 1). Inflamatorni procesi koji aktiviraju makrofage dodatno indukuju stvaranje stvaranjem plazmina. Makrofazi takođe mogu putem endocitoze da unesu IgG vezane latentne TGF β kompleks. TGF β spada u antiinflamatorne citokine ima ulogu u regulaciji inflamatornih procesa kao i u diferencijaciji i regulaciji T ćelija.

1.8 Uloga oksidativnog stresa i biomarkeri oksidativnog stresa u laparoskopskoj hirurgiji žučne kese

Poslednjih godina sa sve većim napretkom modernih tehnologija i boljim razumevanjem uticaja produkata oksidativnih procesa na homeostazu tkiva i razvijanje patoloških procesa tako i raste interesovanje za bolje razumevanje ovih procesa kao i korist biomarkera oksidativnog stresa I njihovu povezanost sa rizikom od oboljevanja različitih bolesti. U brojnim studijama je dokazana štetnost reaktivnih oblika kiseonika i azota u tkivima te će se kroz pregled savremene literature prikazati novija saznanja o ovoj temi i takođe koliko je važno multidisciplinarno proučavanje ovih procesa.

Oksidativni stres zapravo predstavlja oštećenje tkiva koja nastaje pod oticajem reaktivnih oblika kiseonika a koja je posledica nemogućnosti antioksidansnog sistema da detoksikuje reaktivne oblike kiseonika odnosno azota. Prekursor praktično svih reaktivnih oblika kiseonika jeste superoksid (O₂⁻) od kojeg nastaju drugi reaktivni oblici kiseonika među kojima su peroksidi, hidrosil radikali, i „singlet“ kiseonik.. U odnosu na njihovo poreklo,

reaktivni oblici kiseonika se mogu podeliti na egzogene koji nastaju kao posledica unosa različitih ksenobiotika, uticaja jonizujućeg zračenja i drugih mnogobrojnih štetnih spoljašnjih uticaja (73), dok endogeni nastaju putem intracelularnih mehanizama među kojima najveću produktivnost ima mehanizam putem NADPH oksidaze u ćelijskoj membrani, peroksizomima, mitohondrijama i endoplazmatskom retikulumu (74, 75). Antioksidansi enzim koji reverzira ovaj proces jeste superoksid dismutaza.

NADPH oksidaza (nukleotid adenzin difosfat) predstavlja najznačajniji put nastanka ROK (reaktivnih oblika kiseonika) u ljudskom telu. NADPH oksidaza je membranski enzim i trenutno su poznate četiri njegove forme, NOX 1, NOX 2 , NOX 3 i NOX 4. NADPH oksidaza stvara superokside tako što dovodi do transfera intracelularnih elektrona sa NADPH do molekularnog kiseonika u ćelijskoj membrani i tako dovodeći do nastanka reaktivnih superoksida. Putem ovog mehanizma fagociti uništavaju mikroorganizme koji se nalaze u fagozomima. Takođe se pretpostavlja da NADPH oksidaza može imati značajnu ulogu u procesu ateroskleroze (76, 77) .

Superoksid dismutaza je enzim koji dovodi do dismutacije superoksida u molekularni kiseonik ili u vodonik peroksid.

- $\text{Cu}^{2+}\text{-SOD} + \text{O}_2^- \rightarrow \text{Cu}^+\text{-SOD} + \text{O}_2$
- $\text{Cu}^+\text{-SOD} + \text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{Cu}^{2+}\text{-SOD} + \text{H}_2\text{O}_2$

Trenutno su poznate tri forme superoksid dismutaze, SOD 1 koja se nalazi u citoplazmi, SOD 2 koja se nalazi u mitohondrijama i SOD 3 koji se nalazi ekstracelularno. Po svojoj strukturi, SOD 1 je dimer dok su SOD 2 i 3 tetrameri, u svom reaktivnom centru SOD 1 i 3 sadrže bakar i cink, dok SOD 2 sadrži mangan.

Mutacije gena odgovornih za kodiranje superoksid dismutaze mogu dovesti do veoma opasnih i smrtonosnih oboljenja kao što su amitrofična lateralna skleroza, hepatocelularni karcinom, i defekti neuralne cevi (78, 79).

Trenutno, najveći problem za izbor adekvatnog biomarkera oksidativnog stresa jeste kratak život reaktivnih oblika kiseonika i azota kao i izbor biološkog materijala. Metode koje bi mogle biti korisne u kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi su ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), HPLC (high pressure liquid chromatography), ESR (pectroscopy, gas chromatography-mass spectrometry), EPR (electron paramagnetic resonance), imunobloating Iidruge (80). Pored ovih pokušana su dinamička ispitivanja putem peroksidacije lipida ali ova metoda je nespecifična iz razloga što se detektuju i drugi produkti peroksidacije lipida te uzimajući u obzir navedene činjenice trenutno ne postoji adekvatna laboratorijska metoda kojom bi mogli da se mere produkti koji učestvuju u oksidativnom stresu.

Pored reaktivnih oblika kiseonika, drugi po važnosti jesu i **reaktivni oblici azota** koji nastaju od azot monoksida (NO).

Azot monoksid sam po sebi ima značajnu ulogu u prenosu celularnih signala i kao antioksidans, ali njegove brze reakcije sa drugim slobodnim radikalima na prvom mestu sa superoksidom O_2^- i tako formirajući peroksinitrit ($ONOO^-$) (81,82) koji je veoma reaktivan sa većinom postojećih biomolekula i tako indukuje celularno oštećenje. Pokazano je u brojnim studijama da je NO i do 300 puta reaktivniji sa kiseonikom u hidrofobnim sredinama kao što je ćelijska membrana nego u hidrofilnim (83, 84) što uzrokuje ubrzano stvaranje intermedijernih produkata reakcije sa kiseonikom kao što su N_2O_3 , N_2O_4 , i slobodni radikal NO_2 koji je glavni inductor peroksidacije lipida (85). Međutim samo izlaganje lipida NO neće dovesti do peroksidacije, već je inhibira (86, 87) ali će kontinuirano izlaganje lipida NO i O_2^- nitrozovanih derivata lipida.

Mehanizam nastanka reaktivnih oblika azota. U biološkim sistemima glavni izvor reaktivnih oblika azota jeste NO kao što je već navedeno. Procenjuje se da koncentracija NO iznosi oko 20 nM–2 μ M koliko otprilike produkuje azot monoksidna sintetaza (NOS) (87, 88). Brze reakcije NO sa slobodnim radikalima dovode do stvaranja reaktivnih produkata god kojih je najreaktivniji peroksinitrit ($ONOO^-$). Iako se najveći deo NO proizvodi putem NOS postoje i drugi metabolički putevi kao što su nitritni koji je izraženiji u stanjima inflamacije i ishemije.

Ćelijska signalizacija i reaktivni oblici azota. Reaktivni oblici azota igraju značajnu ulogu kao prenosioci celularnih signala u redoks reakcijama u kojima učestvuju, te je poznato da imaju uticaj u regulaciji stvaranja faktora rasta, stres i regulaciju stvaranja citokina (89). Pokazano je u nekim studijama (90, 91) da NO smanjuje uticaj citokina na glatke mišiće i endotel vaskularnog tkiva kod inflamatornih procesa i pretpostavlja se da je to posledica uticaja na modulaciju NFκB faktora transkripcije (91) i na aktivaciju GTP vezujućeg proteina p21Ras. Indirektan uticaj reaktivnih oblika azota na signalizaciju se može objasniti nitracijom tirozina od strane peroksinitrita što dovodi do inhibicije fosforilacije tirozina (92). Kako brojni signalni procesi u ćeliji zavise od tirozina, reaktivni oblici azota tako mogu imati značajan uticaj na patološke procese naročito na denaturaciju proteina i ireverzibilnu inhibiciju enzima. Kao primer se može navesti nitracija tirozina kod Mn mitohondrijalne superoksid dismutaze što se može desiti kod odbacivanja transplantiranih bubrega (93).

Veza između oksidativnih procesa i stvaranja proizvoda oksidativnog stresa i laparoskopske holecistektomije sve više dobija pažnju u naučnoj zajednici. U jednoj studiji je ispitivan odnos između stvaranja produkata oksidativnog stresa i njegove povezanosti sa pritiskom koji nastaje nakon formiranja pneumoperitoneuma, gde je utvrđeno da je oksidativni stres bio najizraženiji u vrednostima IAP (intraabdominalni pritisak) između 10 i 15 mmHg ali da su se vrednosti produkata vratili u referentne vrednosti nakon 24 sata (94). Međutim smatra se da komorbiditeti pacijenata mogu uticati na to da se drugačije ispolji odgovor na vrednosti IAP ali se savetuje da vrednost IAP nakon formiranja pneumoperitoneuma bude oko 15 mmHg (94).

1.9. Body Mass Index (BMI)

Body Mass Index odnosno indeks telesne mase predstavlja vrednost koja se dobija količnikom telesne mase i kvadrata telesne visine izražene u metrima. Koristi se kao pokazatelj količine tkiva (mišić, masno tkivo i kost) te nakon toga se osoba kod koje je učinjeno izračunavanje klasifikuje u pothranjene, normalno uhranjene, predgojazne i

gojazne. Osobe čiji je BMI ispod 18.5 spadaju u pothranjene, između 18.5 i 25 normalno uhranjene i preko 30 gojazne. Kod pedijatrijske populacije BMI se određuje u odnosu na percentile za određeni uzrast i pol. BMI predstavlja značajan parametar u određivanju rizika od kardioloških i metaboličkih oboljenja, čak i kao prediktor potencijalnih komplikacija koje se mogu javiti kod operativnog lečenja.

1.10 Dugoročna prognoza operativnog lečenja holecistitisa

Uz adekvatan tretman i pravovremeno operativno lečenje preko 90% pacijenata neće imati postoperativno tegobe zbog kojih su primljeni na hospitalno lečenje. Međutim još uvek manji ali značajan broj pacijenata će razviti tegobe u smislu mučnine i bolova u trbuhu u sklopu „postholecistektomijskog sindroma” . Takođe potrebna je kontinuirana edukacija i postizanje konsenzusa o primeni antibiotika u akutnoj fazi holecistitisa i postavljanja indikacije za ranu holecistektomiju. Na osnovu brojnih studija koje su navedene u ovom radu nesumnjivo je dokazano da je laparoskopiska holecistektomija najbezbedniji metod rešavanja kalkuloze žučne kese pre svega zbog manjih gubitaka krvi i elektrolita tako i zbog smanjene imunosupresije u odnosu na otvorenu procedure. Potrebna su dodatna ispitivanja i veće studije kako bi se bolje odredili imunološki aspekti laparoskopске hirurgije.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja

1. Dokazati da su nivoi proinflammatoryh medijatora ($TNF\alpha$, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10) signifikatno povišeni kod pacijenata operisanih klasičnim hirurškim metodama u odnosu na laparoskopske hirurške metode.
2. Dokazati da postoje značajne razlike u dužini trajanja operativnih procedura kod klasične u odnosu na laparoskopsku hirurgiju.
3. Dokazati da parametri inflamacije signifikantno rastu kod klasičnih hirurških metoda u odnosu na laparoskopsku.
4. Dokazati da je nivo proinflammatoryh citokina u korelaciji sa ishodom operativnog lečenja kao i da neki od njih mogu biti rani prognostički faktori
5. Pokazati korelaciju nivoa markera oksidativnog stresa sa ishodom lečenja kod konvencionalne hirurške metode u odnosu na laparoskopsku hirurgiju.
6. Dokazati da je laparoskopska holecistektomija „zlatni standard” za operativno lečenje pacijenata sa holecistolitijazom.
7. Uvesti protokole pracenja proinflammatoryh, antiinflammatoryh citokina kao i markera oksidativnog stresa kod klasičnih hirurških operacija žučne kese i laparoskopskih operacija žučne kese.



3. MATERIJA I METODE

3.1 Ispitanici

Studija je dizajnirana kao prospektivna. Izvedena je na pacijentima Klinike za urgentnu hirurgiju Urgentnog centra Kliničkog Centra Srbije. Grupa ispitanika broji 60 bolesnika koji su podeljeni u dve grupe. Prvu grupu sačinjavaju pacijenti koji su operativno tretirani, kod kojih je učinjena klasična holecistektomija a druga grupa su pacijenti kod kojih je učinjena laparoskopna holecistektomija. U studijsku grupu ušli su bolesnici starosti 36-78 god, koji nisu imali sistemski ni maligna oboljenja. Iz studije su takođe isključeni pacijenti sa ikterusom.

Studija je izvedena multidisciplinarno (hirurg, anesteziolog, radiolog, biohemičar, imunolog, statističar).

Kod svih pacijenata su praćena po 22 parametara podeljenih u 4 grupa: demografski, klinički, operativni, laboratorijski.

Od demografskih parametara od značaja za studiju su bili pol i godište pacijenata
Praćeni su klinički parametri (krvni pritisak, puls, telesna temperatura).

Od operativnih parametara praćeni su su kardiovaskularni i respiratorni efekti u anti Trendelenburgovom položaju nakon kreiranja pneumoperitoneuma.

Radiografske metode: nativni snimak, ultrasonografija abdomena, CT abdomena,

Praćene su tri grupe laboratorijskih analiza:

- standardne biohemijske analiza (Krvna slika sa leukocitarnom formulom, INR, aPTT, urea, kreatinin, Na, K, Cl, Ca, AST, ALT, alfa amilaza, alkalna fosfataza, bilirubin direktni I ukupni).

- praćenje nivoa proinflamatornih i antiinflamatornih citokina.

- merenje stres oksidativnih markera

Svi pacijenti su preoperativno dobili antibiotsku profilaksu. Svi pacijenti su bili operisani u opštoj endotrahealnoj anesteziji u anti Trendelenburgovom položaju i za vođenje anestezije koristila se tehnika balansirane anestezije. Kao antidote se koristio prostigmin (neostigmin) 2.5 mg maksimalno u kombinaciji sa atropinom 1 mg zbog toga što prostigmin ima neželjene efekte u smislu bradikardije, postoperativno su se od analgetika koristili opioidni i NSAIL.

Nakon izlaska iz operacione sale svi pacijenti su prevedeni u sobu za budjenje a nakon toga u jedinicu hirurškog intenzivnog lečenja radi nastavka praćenja postoperativnih parametara (kardiovaskularnih i respiratornih kao I opšteg stanja pacijenta). Operativni zahvat se izvodio minimalno invazivnom (laparoskopskom) i klasičnom (otvorenom) hirurškom tehnikom.

Pacijenti koji su operisani klasično su bili otpušteni sa hospitalnog lečenja između trećeg i petog postoperativnog dana

Pacijenti koji su operisani laparoskopski bili su otpušteni sa hospitalnog lečenja između prvog i trećeg dana.

3.2 Praćenje nivoa citokina

Dnevni uzorci krvi uzimani su za rutinske redovne biohemijske testove i iz njih je izdvojen uzorak za određivanje nivoa citokina u periodu od momenta ulaska u operacionu salu, 24 sata postoperativno i 72 sata postoperativno. Uzorci su bili centrifugirani 4000 rpm 10 minuta i serum je cuvan na minus -80°C do testiranja. Minimalna koncentracija određena je za TNF-a na 5pg/ml, a za ostale citokine 6pg/ml uzorka. Uzimani su u obzir najvisi i najnizi serumski nivoi. Za analizu su bile upotrebljene ROC (*receiver operative characteristics*) metode. Parametri koji su ispod ROC krive najbliži vrednosti 1 korespondirali su kao najpredikivniji. S druge strane, parametri koji imaju vrednost 0,5 nemaju prediktivni značaj.

Koncentracije citokina u uzorcima seruma određene su korišćenjem komercijalnog multipleks testa firme *Bender MedSystems GmbH* (BMS716FF) na aparatu firme *Beckman Coulter*. Koncentracija CRP u serumu određena je komercijalnim testom firme *Olympus* na analizatoru *Olympus AU400*. Parametri hemostaze, krvna slika i aktivnosti enzima određeni su standardnim laboratorijskim metodama.

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog komiteta Kliničkog centra Srbije i Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

3.3 Izvođenje hirurške intervencije

Uvod u anesteziju je učinjen propofolom(3-4 mg/kg), fentanilom(1.5µg/kg) i cis atrakurijumom (0.16 mg/kg). Antibiotička terapija se sastojala od primene 1.5 g cefurkosima pola sata preoperativno Nakon endotrahealne intubacije kod svih pacijenata je obezbeđena mehanička ventilacija uz pomoć sevoflurana(1-2%) i mešavinom O₂. Hiruršku intervenciju su radili različiti hirurzi. Kod grupe operisane laparaskopski, pneumoperitoneum je održavan na vrednosti od 15 mmHg. Sve predstrožnosti vezane za adekvatnu hemostazu nakon plasiranja portova su preduzete. Svi pacijenti iz grupe kod koje je učinjena otvorena holecistektomija pristup abdominalnoj duplji je učinjen desnim subkostalnim rezom. Kod obe grupe žučna kesa je retrogradno izljuštena iz svoje lože monopolarnom dijatermijom, laparaskopski kroz umbilikalni port dok je kod grupe operisane otvoreno izvađena kroz operativnu inciziju. Na a.cysticu i d.cysticus su plasirani klipsevi kod laparaskopski operisanih pacijenata dok su kod otvorene holecistektomije plasirane ligature.

3.4 Statistička analiza

Za statističku analizu podataka korišćene se metode deskriptivne i inferencijalne statistike. Od metoda deskriptivne statistike korišćene se mere centralne tendencije (aritmetička sredina, mediana), mere varijabiliteta (standardna devijacija, minimalna i maksimalna vrednost) kod numeričkih obeležja posmatranja, odnosno apsolutni i relativni brojevi kod kvalitativnih obeležja posmatranja. Hi kvadrat test korišćen za ispitivanje razlike u učestalosti posmatranih kategorijalnih obeležja posmatranja između ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese i laparaskopskom operacijom žučne kese. Izbor testova kod numeričkih obeležja posmatranja, zavisio je od tipa raspodele podataka. Normalnost raspodele podataka ispitivan je Koglorov Smirnov-im testom. U slučaju raspodele različite od normalne i kod poređenja između dve grupe ispitanika (sa i bez laparaskoske operacije žučne kese) koristio se Mann Whitney U test, a u slučaju normalne raspodele podataka koristio se t-test. Za analizu vrednosti posmatranih citokina i parametara oksidativnog stresa, merenih u

tri različita vremena: preoperativno, 24 h i 72 h posle operacije (numerička obeležja posmatranja, sa raspodelom različitom od normalne), korišćen je Fridman-ov test i RM-ANOVA (numerička obeležja posmatranja, sa normalnom raspodelom). Za poređenja između pojedinih vremena merenja korišćen je Wilcoxon-ov test i Bonferroni test. Za statističku obradu podataka korišćen je SPSS 23.0 statistički softver.

4. REZULTATI

4.1. Opšte karakteristike ispitanika

Nije uočena statistički značajna razlika u starosti ispitanika, između analiziranih grupa pacijenata sa operacijom žučne kese, operisane laparaskopski i klasičnim načinom, (tabela 4) Prosečna starost ispitanika iznosila je $60,43 \pm 11,68$ godina u grupi sa klasičnom operacijom i $55,43 \pm 12,47$ godina u grupi sa laparaskopskom operacijom žučne kese

Tabela 4. Demografske karakteristike ispitanika i dužina trajanja operacije

Posmatrani parametri n (%)/(X \pm SD; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
Broj ispitanika	30	30	
Pol	Žene	15 (50%)	^a p=0,114
	Muškarci	15 (50%)	
Starost	$60,43 \pm 11,68$ (62,5; 29-75)	$55,43 \pm 12,47$ (56,5; 36-78)	^b p=0,114
BMI	$24,67 \pm 2,12$ (24,7; 20,2-27,3)	$24,50 \pm 1,82$ (24,45; 20,6-27,6)	^b p=0,740
Dužina trajanja operacije	$112,53 \pm 12,99$ (113,5; 95-138)	$84,20 \pm 28,72$ (93; 25-125)	^c p=0,000*

*statistically significant; ^a χ^2 -test; ^bt-test; ^cMann Whitney test

Između analiziranih grupa nije uočena statistički značajna razlika u polu ispitanika, (tabela 4) U grupi sa laparaskom operacijom bilo je nešto više žena nego u grupi sa klasičnom operacijom. Nije uočena statistički značajna razlika u BMI između analiziranih grupa ispitanika, (tabela 4). U posmatranim grupama ispitanika BMI bio je približno isti.

Statistički značajna razlika uočena je u trajanju operacije između posmatranih grupa ispitanika, (tabela 4). Trajanja operacije bilo je statistički značajno duže kod ispitanika sa

klasičnom operacijom i u proseku je iznosilo $112,53 \pm 12,99$ minuta, a u grupi sa laparaskopskom operacijom prosečna dužina trajanja operacije bila je $84,20 \pm 28,72$ minuta.

4.2. Parametri inflamacije

Vrednosti broja leukocita pre operativno nisu se statistički značajno razlikovale između analiziranih grupa ispitanika, (tabela 5). Dvadeset četiri časa nakon operacije, kao i sedamdeset dva sata posle operacije, statistički značajno veće vrednosti broja leukocita bile su u grupi ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese. Tokom posmatranog perioda praćenja, uočena je statistički značajna promena vrednosti broja leukocita u grupi sa klasičnom operacijom žučne kese, dok u grupi sa laparaskopskom operacijom nije došlo do statistički značajne promene vrednosti broja leukocita, (tabela 5). U grupi sa klasičnom operacijom žučne kese statistički značajan porast broja leukocita zabeležen je tokom prvih dvadeset četiri sata (Wilcoxon-ov test; $p=0,000$) i u toku narednih četrdeset osam sati nije zabeležena statistički značajna promena vrednosti ovog parametra (Wilcoxon-ov test; $p=0,805$), tako da je broj leukocita 72^h nakon operacije i dalje bio skoro duplo veći od početnih vrednosti (Wilcoxon-ov test; $p=0,000$).

Tabela 5. Parametri inflamacije

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))		Operativna tehnika		Značajnost [#]
		Klasična žučne kese	operacija Laparaskopska operacija žučne kese	
Leukociti	0h	7,56 \pm 1,72 (7,51; 4,8-11)	6,98 \pm 1,79 (6,75; 5-11,3)	^a p=0,124
	24h	14,20 \pm 2,61 (14,1; 9,6-18,7)	6,33 \pm 0,96 (6,2; 4,7-8,2)	^a p=0,000*
	72h	14,20 \pm 2,17 (14,25; 9,8-18,4)	5,83 \pm 0,39 (6,0; 5,0-6,5)	^a p=0,000*
Značajnost ^{&}		^b p=0,000*	^b p=0,146	
CRP	0h	4,05 \pm 1,01 (4,05; 2-6)	3,70 \pm 0,92 (3,85; 2-5,1)	^a p=0,248
	24h	18,39 \pm 7,89 (16,35; 6,8-38,3)	3,02 \pm 1,41 (2,7; 1,1-6,1)	^a p=0,000*
	72h	20,21 \pm 11,30 (16,7; 4,8-49,8)	2,28 \pm 1,54 (2,05; 0-5,2)	^a p=0,000*
Značajnost ^{&}		^b p=0,000*	^b p=0,001*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupe

Nije uočena statistički značajna razlika u pre operativnim vrednostima CRP-a između analiziranih grupa ispitanika, tabela 4. Vrednosti CRP-a izmerene 24^h i 72^h posle operacije, statistički značajno su se razlikovale između ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese i laparaskom operacijom, (tabela 5). Naime statistički značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese, (tabela 5). Tokom trodnevnog perioda merenja vrednosti CRP-a statistički značajno su se menjale u obe analizirane grupe, (tabela 5). U grupi sa klasičnom operacijom žučne kese, statistički značajan porast CRP-a zabeležen je tokom prvih 24^h (Wilcoxon-ov test; p=0,000), dok se u periodu do sledećeg merenja nije statistički značajno menjao (Wilcoxon-ov test; p=0,411), tako da su vrednosti ovog parametra na kraju perioda praćenja bile višestruko veće nego na preoperativno. U grupi sa laparaskopskom operacijom žučne kese tokom posmatranog perioda praćenja, beleži se statistički značajan pad CRP-a. Statistički značajan pad CRP-a zabeležen je već posle 24^h (Wilcoxon-ov test; p=0,044) i nastavio se i u narednom periodu (Wilcoxon-ov test; p=0,006),

4.3. Protokol praćenja vrednosti TNF α kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Nije uočena statistički značajna razlika u pre operativnim vrednostima TNF-a, između ispitanika sa klasičnom i laparaskopskom operacijom žučne kese, (tabela 6). Dvadeset četiri sata posle operacije zabeležene su statistički značajno veće vrednosti TNF-a u grupi ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese. Statistički značajno veće vrednosti ovog parametra u ovoj grupi pacijenata izmerene su i posle 72^h, (tabela 6).

Tabela 6. TNF α

Posmatrani parametar (X \pm SD; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	11,83 \pm 22,91 (0,0; 0,0-71,0)	10,07 \pm 48,62 (0,0; 0,0-265,0)	^a p=0,076
TNF			
24h	30,13 \pm 49,12 (10,0; 0,0-247,0)	2,3 \pm 7,04 (0,0; 0,0-25,0)	^a p=0,000*
72h	365,50 \pm 1020,34 (95,5; 0-4417)	90,77 \pm 492,45 (0,0; 0-2698)	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,000*	^b p=0,810	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

Tokom posmatranog trodnevnog perioda praćenja, vrednosti TNF-a nisu se statistički značajno menjale u grupi sa laparskopskom operacijom žučne kese, (tabela 6). U grupi sa klasičnom operacijom tokom prvih 24^h, zabeležen je statistički značajan porast vrednosti TNF-a (Wilcoxon-ov test; p=0,027). Statistički značajan porast ovog parametra u posmatranoj grupi pacijenata nastavljen je i u periodu od 24^h do 72^h (Wilcoxon-ov test; p=0,006),

4.4 Promene vrednosti vrednosti IL-1 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Između posmatranih grupa ispitanika, nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima IL-1 pre operativno, dok su statistički značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene 24h i 72h, nakon operacije u grupi sa klasičnom operacijom žučne kese, (tabela 7) . Statistički značajna promena vrednosti ovog parametra zabeležena je unutar svake od analiziranih grupa ispitanika, (tabela 7). Kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese, blagi porast IL-1 zabeležen je već 24h nakon operacije, dok je do statistički značajnog porasta vrednosti ovog parametra došlo 72h nakon operacije (Wilcoxon-ov test; p=0,003). U grupi sa laparaskopskom operacijom žučne kese, takođe se beleži blagi porast IL-1 24h nakon operacije, a zatim je zabeležen statistički značajna pad vrednosti ovog citokina (Wilcoxon-ov test; p=0,003), (tabela 7). Vrednosti IL-1 izmerene 72h nakon operacije kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese bile su statistički značajno manje (Wilcoxon-ov test; p=0,001) od preoperativnih vrednosti ovog parametra.

Tabela 7. IL-1

Posmatrani parametri (X±SD; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	4,87±4,91 (4; 0-20)	4,47±7,71 (0,5; 0-26)	^a p=0,148
IL-1			
24h	7,37±9,65 (3,5; 0-40)	5,60±20,21 (1,87; 0-111)	^a p=0,018*
72h	22,5±25,83 (20; 0-104)	0,07±0,254 (0; 0-1)	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,017*	^b p=0,003*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.5 Promene vrednosti vrednosti IL-2 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Između ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese i laparaskopskom operacijom žučne kese, nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima IL-2 preoperativno. U narednim periodima praćenja 24^h posle operacije i 72^h posle operacije, statistički značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese. Unutargrupnom analizom vrednosti IL-2, statistički značajna promena vrednosti ovog parametra uočena je unutar obe analizirane grupe, tabela 8. U grupi sa klasičnom operacijom žučne kesi unutar prvih 24^h posle operacije nije zapažena statistički značajna promena vrednosti IL-2 (Wilcoxon-ov test; p=0,758). U ovoj grupi ispitanika u periodu od 24^h do 72^h, dolazio do statistički značajnog porasta ovog parametra (Wilcoxon-ov test; p=0,043). Kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese u prvih dvadeset četiri sata, nije zabeležena statistički značajna promena IL-2 (Wilcoxon-ov test; p=0,758), dok se u narednih četrdeset osam sati beleži statistički značajan pad vrednosti ovog parametra (Wilcoxon-ov test; p=0,000), tako da su na kraju trodnevnog perioda praćenja svi ispitanici iz ove grupe imali nemerljive vrednosti ovog parametra (tabela 8).

Tabela 8. IL-2

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	33,40 \pm 42,74 (0,0; 0-137)	12,57 \pm 25,73 (0,0; 0-99)	^a p=0,069
IL-2	24h	29,07 \pm 37,77 (10,5; 0-136)	^a p=0,001*
	72h	254,43 \pm 620,47 (97,0; 0-3283)	0 kod svih pacijenata ^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,003*	^b p=0,007*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.6 Promene vrednosti vrednosti IL-4 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Između ispitanika, kod kojih je primenjivana različita operativna tehnika odstranjivanja žučne kese, nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima IL-4 izmerenim preoperativno, (tabela 9). Vrednosti ovog parametra izmerene 24^h i 72^h posle operacije, statistički značajno su bile veće kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese, (tabela 9). Unutargrupnom analizom vrednosti ovog parametra, statistički značajne promene tokom posmatranog perioda praćenja uočene su i kod ispitanika sa klasičnom metodom i kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese, (tabela 9). Kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese nije došlo do statistički značajne promene vrednosti IL-4 tokom prvih 24^h, postoperativno (Wilcoxon-ov test; p=0,665). Porast vrednosti ovog parametra beleži se u periodu između 24^h i 72^h (Wilcoxon-ov test; p=0,002). Vrednosti IL-4 izmerene na kraju ovog perioda, bile su statistički značajno veće od preoperativnih vrednosti (Wilcoxon-ov test; p=0,000). U grupi sa laparaskopskom operacijom žučne kese, takođe nije uočena statistički značajna promena vrednosti ovog parametra tokom prvih 24^h (Wilcoxon-ov test; p=0,142). U narednom periodu do 72^h beleži se statistički značajan pad vrednosti IL-4.

Tabela 9. IL-4

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	26,50 \pm 15,11 (30,50; 0-50)	18,03 \pm 23,04 (0,0; 0-75)	^a p=0,100
IL-4	24h	28,77 \pm 26,22 (30,50; 0-107)	^a p=0,001*
	72h	129,3 \pm 266,55 (73,50; 0-1184)	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,007*	^b p=0,025*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&] poređenje unutar grupa

4.7 Promene vrednosti vrednosti IL-5 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Vrednosti interleukina 5 izmerene preoperativno kod ispitanika sa klasičnom i laparaskopskom operacijom žučne kese nisu se statistički značajno razlikovale, tabela 10. Statistički značajno veće vrednosti ovog parametre izmerene su kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese 24^h i 72^h posle operacije, (tabela 10). U obe analizirane grupe tokom posmatranog perioda praćenja u trajanju od 72^h, uočene su statistički značajne promene vrednosti IL-5. U grupi sa klasičnom operacijom žučne kese, nije zabeležena statistički značajna promena vrednosti ovog parametra tokom prvih 24^h (Wilcoxon-ov test; p=0,074). U periodu od 24^h do 72^h, zapaža se statistički značajan porast vrednosti IL-5 u ovoj grupi ispitanika (Wilcoxon-ov test; p=0,028). U grupi sa laparaskopskom operacijom žučne kese, nije uočena statistički značajna promena vrednosti IL-5, 24^h posle operacije (Wilcoxon-ov test; p=0,272), dok se u narednom periodu do 72^h, posle operacije zapaža statistički značajno smanjenje IL-5 u grupi sa laparaskopskom operacijom, kada su kod svih ispitanika vrednosti ovog parametra bile nemerljive.

Tabela 10. IL-5

Posmatrani parametri (X±SD; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	28,37±57,86 (0,0; 0-252)	130,3±312,63 (0,0; 0-1281)	^a p=0,833
IL-5	24h	175,07±771,51 (29,50; 0-4225)	61,00±243,57 (0,0; 0-1309) ^a p=0,002*
	72h	611,5±2329,26 (73,50; 0-12854)	0 kod svih pacijenata ^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,003*	^b p=0,006*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.8 Promene vrednosti IL-6 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Preoperativne vrednosti IL-6 nisu se statistički značajno razlikovale između ispitanika sa klasičnom i laparaskopskom operacijom žučne kese, (tabela 11). Statistički značajno veće vrednosti IL-6 izmerene su 24^h posle operacije kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese. 72^h posle operacije vrednosti IL-6 u grupi ispitanika sa klasičnom operacijom bile su statistički značajno veće od vrednosti izmerenih u grupi sa laparaskopskom operacijom. Analizom unutargrupnog variranja vrednosti IL-6, statistički značajna promena nije uočena kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese, dok je kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom uočeno statistički značajno smanjenje vrednosti ovog parametra tokom trodnevnog perioda praćenja. U ovoj grupi, statistički značajna razlika uočena je samo između preoperativnih vrednosti IL-6 i vrednosti izmerenih 72^h posle operacije (Wilcoxon-ov test; p=0,015).

Tabela 11. IL-6

Posmatrani parametri (X _± SD; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	196,83 _± 497,92 (0; 0-2002)	12,50 _± 41,41 (0; 0-216)	^a p=0,149
IL-6			
24h	37,10 _± 65,96 (14,0; 0-323)	0,87 _± 2,80 (0; 0-14)	^a p=0,000*
72h	216,0 _± 738,98 (23,5; 0-4037)	0,27 _± 1,46 (0; 0-8)	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,564	^b p=0,005*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.9 Promene vrednosti IL-9 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Između ispitanika sa klasičnom i laparaskopskom operacijom žučne kese nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima IL-9 preoperativno, tabela 12. Statistički značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su 24^h i 72^h posle operacije kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese, (tabela 12). Statistički značajna promena vrednosti ovog parametra tokom posmatranog perioda praćenja, uočena je u obe analizirane grupe ispitanika, tabela 12. 24^h posle operacije, vrednosti IL-9 izmerene kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese statistički značajno su bile veće od vrednosti ovog parametra izmerenih preoperativno (Wilcoxon-ov test; p=0,009). U periodu između 24^h i 72^h, posle operacije nije uočena statistički značajna promena vrednosti ovog parametra (Wilcoxon-ov test; p=0,705). Na kraju perioda praćenja vrednosti IL-9 kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese i dalje su bile veće od preoperativnih vrednosti (Wilcoxon-ov test; p=0,020). Kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese, vrednosti IL-9, 24^h posle operacije nisu se statistički značajno razlikovale od vrednosti izmerenih preoperativno (Wilcoxon-ov test; p=0,903). U periodu između drugog i trećeg merenje zapaža se pad vrednosti IL-9 u ovoj grupi ispitanika ali ne i statistički značajan (Wilcoxon-ov test; p=0,073). Vrednosti ovog parametra izmerene na kraju perioda praćenja kod ove grupe ispitanika, bile su statistički značajno manje od početnih (Wilcoxon-ov test; p=0,049).

Tabela 12. IL-9

Posmatrani parametri (X _± SD; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	78,47±158,92 (0,0; 0-731)	7,53±18,45 (0,0; 0-73)	^a p=0,167
IL-9			
24h	319,93±623,85 (97,50; 0-3209)	37,50±115,55 (0,0; 0-542)	^a p=0,000*
72h	1154,0±2937,95 (86,0; 0-12134)	1,57±5,49 (0,0; 0-26)	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,046*	^b p=0,048*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.10 Promene vrednosti IL-10 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Vrednosti IL-10, izmerene pre operacije nisu se statistički značajno razlikovale između ispitanika sa klasičnom i laparskopskom operacijom žučne kese, (tabela 13). Statistički značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su 24^h i 72^h posle operacije u grupi sa klasičnom operacijom žučne kese. I kod ispitanika sa klasičnom i kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese, uočena je statistički značajna promena vrednosti ovog parametra tokom posmatranog perioda praćenja, (tabela 13). U grupi sa klasičnom operacijom žučne kese, nije uočena statistički značajna promena vrednosti IL-10 tokom prvih 24^h posle operacije (Wilcoxon-ov test; p=0,885). Statistički značajan porast vrednosti ovog parametra zabeležen je u narednom periodu do 72^h posle operacije, kada su u ovoj grupi izmerene vrednosti IL-13, koje su bile statistički značajno veće i od preoperativnih (Wilcoxon-ov test; p=0,002) i od onih izmerenih 24^h posle operacije (Wilcoxon-ov test; p=0,014). U grupi sa laparaskopskom operacijom žučne kese, vrednosti ovog interleukina nisu se statistički značajno menjale tokom prvih 24^h (Wilcoxon-ov test; p=0,088). U periodu do 72^h posle operacije zabeležen je statistički značajan pad vrednosti ovog parametra tako da su vrednosti IL-10 izmerene na kraju perioda praćenja bile statistički značajno manje i od vrednosti ovog interleukina izmerenih 24^h posle operacije (Wilcoxon-ov test; p=0,025) i od preoperativnih vrednosti (Wilcoxon-ov test; p=0,005).

Tabela 13. IL-10

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	56,53±96,20 (19,50; 0-403)	47,63±140,64 (0,0; 0-703)	^a p=0,127
IL-10			
24h	142,83±475,39 (27,50; 0-2597)	5,90±14,42 (0,0; 0-65)	^a p=0,000*
72h	608,53±1497,75 (101,5; 0-6174)	0,17±0,913 (0,0; 0-5)	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,012*	^b p=0,007*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.11 Promene vrednosti IL-12 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Nije uočena statistički značajna razlika u preoperativnim vrednostima IL-12 između ispitanika sa klasičnom i laparaskopskom operacijom žučne kese, kao ni u vrednostima ovog parametra izmerenim 24^h i 72^h posle operacije, (tabela 14). Vrednosti IL-12 nisu se statistički značajno menjale tokom perioda praćenja u grupi sa laparaskopskom operacijom žučne kese, (tabela 14).. Statistički značajna promena u vrednostima IL-12, zapažena je u grupi sa klasičnom operacijom žučne kese. Tokom prvih 24^h nije došlo do statistički značajne promene vrednosti ovog parametra (Wilcoxon-ov test; p=0,658) u ovoj grupi ispitanika. Statistički značajan porast IL-12 kod pacijenata sa klasičnom operacijom žučne kese zabeležen je u periodu od 24^h do 72^h (Wilcoxon-ov test; p=0,000). Vrednosti IL-12 izmerene na kraju perioda praćenja bile su statistički značajno veće nego vrednosti ovog parametra izmerene preoperativno (Wilcoxon-ov test; p=0,015).

Tabela 14. IL-12

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	33,50 \pm 45,87 (18,0; 0-241)	121,13 \pm 190,81 (20,0; 0-715)	^a p=0,667
IL-12			
24h	57,53 \pm 143,70 (19,5; 0-790)	102,97 \pm 167,61 (0; 0-628)	^a p=0,251
72h	280,10 \pm 501,52 (131,0; 0-2551)	162,67 \pm 199,57 (0,0; 0-623)	^a p=0,160
Značajnost^{&}	^b p=0,001	^b p=0,603	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.12 Promene vrednosti IL-13 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Preoperativne vrednosti IL-13, nisu se statistički značajno razlikovale između ispitanika sa klasičnom i laparaskopskom operacijom žučne kese, (tabela 15). Tokom perioda praćenja, 24^h i 72^h posle operacije, statistički značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese, (tabela 15). Unutargrupnom analizom, statistički značajne promene vrednosti IL-13 uočene su u obe analizirane grupe ispitanika, (tabela 15). Tokom prvih 24^h posle operacije, vrednosti IL-13 nisu se statistički značajno menjale ni kod ispitanika sa klasičnom metodom (Wilcoxon-ov test; p=0,559), ni kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese (Wilcoxon-ov test; p=0,542). U periodu od 24^h do 72^h, došlo je do statistički značajne promene vrednosti IL-13 u obe analizirane grupe. Kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese u ovom periodu došlo je do statistički značajnog porasta vrednost IL-13 (Wilcoxon-ov test; p=0,001), dok je u grupi sa laparaskopskom operacijom zapažen statistički značajan pad vrednosti ovog parametra (Wilcoxon-ov test; p=0,047).

Tabela 15. IL-13

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	68,90 \pm 62,61 (77,0; 0-220)	135,7 \pm 441,03 (0,0; 0-2357)	^a p=0,075
IL-13			
24h	83,97 \pm 93,59 (49,50; 0-323)	39,60 \pm 64,00 (0,0; 0-216)	^a p=0,027*
72h	218,13 \pm 160,08 (298,0; 0-455)	28,97 \pm 124,32 (0,0; 0-674)	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,008*	^b p=0,041*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.13 Promene vrednosti IL-17 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima IL-17, između ispitanika sa različitim operativnim pristupom: klasičnom i laparaskopskom operacijom žučne kese, (tabela 16). U narednim periodima posmatranja, 24^h i 72^h, posle urađene operacije, statistički značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese (tabela 16). Statistički značajne promene vrednosti ovog parametra zabeležene su unutar obe analizirane grupe ispitanika, (tabela 16). U grupi sa klasičnom operacijom žučne kese nije uočena statistički značajna promena vrednosti IL-17 unutar prvih 24^h posle operacije (Wilcoxon-ov test; p=0,407). Statistički značajan porast vrednosti ovog parametra beleži se u narednom periodu, tako da su vrednosti IL-17 izmerene kod ispitanika sa ovim operativnim pristupom, 72^h posle operacije bile statistički značajno veće od onih izmerene 24^h posle operacije (Wilcoxon-ov test; p=0,007), kao i od vrednosti IL-17 izmerenih preoperativno (Wilcoxon-ov test; p=0,004). U grupi sa laparaskopskom operacijom žučne kese vrednosti IL-17, 24^h, posle operacije nisu se se statistički značajno razlikovale od onih izmerenih preoperativno (Wilcoxon-ov test; p=0,724), dok su u periodu do 72^h posle vrednosti ovog parametre su se statistički značajno smanjile (Wilcoxon-ov test; p=0,028) i kod svih ispitanika su bile nemerljive.

Tabela 16. IL-17

Posmatrani parametri (X±SD; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	73,10±274,92 (0,0; 0-1509)	48,33±247,64 (0,0; 0-1359)	^a p=0,106
IL-17			
24h	49,73±91,81 (20,0; 0-420)	20,37±62,91 (0,0; 0-299)	^a p=0,000*
72h	254,53±506,71 (120,0; 0-2682)	0 kod svih pacijenata	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,022*	^b p=0,032*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.14. Promene vrednosti IL-22 kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Nije uočena statistički značajna razlika u preoperativnim vrednostima IL-22 između ispitanika sa različitim operativnim pristupom odstranjivanja žučne kese, (tabela 17). U narednim vremenima merenja 24^h i 72^h posle operacije, statistički značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese, (tabela 17). U grupi sa klasičnom operacijom žučne kese nije zabeležena statistički značajna promena vrednosti IL-22, unutar perioda posmatranja, (tabela 17). U grupi ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese tokom posmatranog sedamdeset dvočasovnog perioda praćenja zabeležen je statistički značajan pad vrednosti ovog interleukina, (tabela 17). Vrednosti ovog parametra izmerene dvadeset četiri sata posle operacije, nisu se statistički značajno razlikovale od preoperativnih (Wilcoxon-ov test; p=0,145). Do statistički značajnog pada vrednosti IL-22 u grupi sa laparaskopskom operacijom žučne kese došlo je u periodu između 24^h i 72^h (Wilcoxon-ov test; p=0,005), kada su vrednosti ovog parametra kod ovih pacijenata bile nemerljive.

Tabela 17. IL-22

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]	
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese		
0h	124,67 \pm 98,04 (110,0; 0-514)	642,4 \pm 98,04 (6,5; 0-16320)	^a p=0,115	
IL-22	24h	157,60 \pm 154,95 (145,0; 0-567)	81,23 \pm 233,74 (0; 0-1273)	^a p=0,001*
	72h	717,83 \pm 2440,18 (303,0; 0-13588)	0 kod svih pacijenata	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,061	^b p=0,000*		

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.15. Promene vrednosti IFN γ kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima IFN γ preoperativno između ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese i ispitanika sa laparaskopskom operacijom, (tabela 18). Dvadeset četiri sata posle operacije statistički značajna razlika uočena je u vrednostima ovog parametra između analiziranih grupa ispitanika i to tako da su veće vrednosti IFN γ izmerene kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese. Statistički značajno veće vrednosti IFN γ u grupi sa klasičnom operacijom žučne kese izmerene su i 72^h posle operacije, (tabela 18). Unutar obe grupa ispitanika tokom posmatranog perioda praćenja uočena je statistički značajna promena vrednosti ovog parametra. Analizom dobijene razlika u grupi sa klasičnom operacijom žučne kese tokom prvih dvadeset četiri sata nije uočena statistički značajna promena ovog parametra (Wilcoxon-ov test; p=0,227), do statistički značajnog porasta IFN γ dolazi u periodu od 24^h do 72^h (Wilcoxon-ov test; p=0,001). U grupi sa laparaskopskom operacijom, vrednosti IFN γ nisu se statistički značajno menjale tokom prvih 24^h (Wilcoxon-ov test; p=0,603), dok su se statistički značajno smanjile u periodu od 24^h do 72^h (Wilcoxon-ov test; p=0,007). Na kraju perioda praćenja vrednosti IFN γ , kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese bile su statistički značajno manje nego pre operacije.

Tabela 18. IFN γ

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	33,07 \pm 38,66 (41,50; 0-157)	164,23 \pm 824,31 (0,0; 0-4527)	^a p=0,162
IFNγ			
24h	116,20 \pm 318,22 (37,0; 0-1713)	882,97 \pm 4447,4 (0; 0-24373)	^a p=0,000*
72h	2452,97 \pm 8892,27 (77,5; 0-44277)	1,50 \pm 5,057 (0,0; 0-24)	^a p=0,000*
Značajnost^{&}	^b p=0,029*	^b p=0,008*	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupe

4.16. Promene vrednosti TGF β kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima TGF β preoperativno i 24^h posle operacije, između ispitanika sa klasičnom i laparaskopskom operacijom žučne kese, (tabela 19). 72^h posle operacije, statistički značajno veće vrednosti TGF β , izmerene su kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese, (tabela 19). Statistički značajne promene vrednosti ovog parametra uočene su i kod ispitanika sa klasičnom i kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese, (tabela 19). Između preoperativnih i vrednosti TGF β izmerenih 24^h posle operacije, nije uočena statistički značajna razlika ni u jednoj od posmatranih grupa: kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese (Bonferroni test; $p=0,999$) i ispitanika sa laparaskopskom operacijom (Wilcoxon-ov test; $p=0,496$). U narednom periodu, kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese, dolazi do statistički značajnog porasta vrednosti TGF β , tako da su vrednosti ovog parametra izmerene 72^h posle operacije bile statistički značajno veće i od preoperativnih vrednosti (Bonferroni test; $p=0,002$) i od vrednosti izmerenih 24^h posle operacije (Bonferroni test; $p=0,000$). Ista dinamika promene vrednosti ovog citokina zabeležena je i kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom. I u ovoj grupi ispitanika u narednom periodu, od 24^h do 72^h posle operacije, beleži se statistički značajan porast vrednosti TGF β , tako da su vrednosti ovog parametra izmerene na kraju perioda praćenja bile statistički značajno veće i od preoperativnih vrednosti (Wilcoxon-ov test; $p=0,007$) i od vrednosti izmerenih 24^h posle operacije.

Tabela 19. TGFβ

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]	
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese		
TGFβ	0h	1100,7±398,25 (1078,1 3; 555-2109)	859,43±496,125 (1055,5; 61-1618)	^a p=0,206
	24h	1085,07±507,42 (1149,0;130-1893)	781,14±552,23 (1010,0; 154-1948)	^a p=0,074
	72h	1953,67±1001,61 (1854,0; 170-3635)	1375,33±756,47 (1432; 191-3025)	^c p=0,014*
Značajnost ^{&}	^d p=0,001*	^b p=0,005*		

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; ^ct-test; ^dRM-ANOVA; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

4.17. Promene vrednosti NO kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Vrednosti NO, nisu se statistički značajno razlikovale između posmatranih grupa ispitanika ni u jednom od analiziranih vremena posmatranja: preoperativno, 24h i 72h nakon operacije, (tabela 20). Unutar grupa, nije zabeležena statistički značajna promena vrednosti ovog parametra tokom 72h praćenja.

Tabela 20. NO

Posmatrani parametri ($\bar{X} \pm SD$; (Med; min-max))	Operativna tehnika		Značajnost [#]	
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese		
NO	0h	4,66±2,37 (4,06; 41,96-11,74)	3,58±1,06 (3,33; 2,24-6,45)	^a p=0,128
	24h	4,56±1,80 (4,03; 2,14-9,01)	3,95±1,27 (3,79; 1,94-6,83)	^a p=0,209
	72h	4,19±1,98 (4,6; 0-9,77)	3,67±2,41 (4,33; 0-9,77)	^a p=0,407
Značajnost ^{&}	^b p=0,943	^b p=0,393		

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupe

4.18. Promene vrednosti nitrotirozinaze (NT) kod klasične/laparoskopske operacije žučne kese

Preoperativne vrednosti NT, nisu se statistički značajno razlikovale između ispitanika sa klasičnom i laparaskopskom operacijom žučne kese, tabela 18. 24^h i 72^h nakon operacije, statističko značajno niže vrednosti ovog parametra zabeležene su kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom. Vrednosti NT kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese nisu se statistički značajno menjale u periodu do 72^h nakon operacije, (tabela 21). Kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese vrednosti NT tokom prvih 24^h posle operacije su se statistički značajno povećale (Wilcoxon-ov test; p=0,000) a zatim u naredna 24^h došlo je do statistički značajnog smanjenja vrednosti ovog parametra (Wilcoxon-ov test; p=0,000), tabela 21. Između preoperativnih vrednosti NT izmerenih u ovoj grupi ispitanika i vrednosti izmerenih 72h posle operacije nije uočena statsitički značajna razlika (Wilcoxon-ov test; p=0,805).

Tabela 21. Nitrotirozinaza (NT)

Posmatrani parametri (X±SD; (Med; min-max))	Opearativna tehnika		Značajnost [#]
	Klasična operacija žučne kese	Laparaskopska operacija žučne kese	
0h	4,31±2,86 (3,68; 0,65-13,0)	3,38±2,21 (3,46; 0,38-9,98)	^a p=0,188
NT 24h	15,31±11,57 (11,98; 2,54-62,23)	3,28±11,62 (3,09; 0,95-6,92)	^a p=0,000*
72h	6,05±5,10 (5,175; 0-25,2)	3,04±2,38 (2,615; 0-7,89)	^a p=0,007*
Značajnost^{&}	^b p=0,000*	^b p=0,291	

*statistički značajna razlika; ^aMann Whitney test; ^bFridman-ov test; [#] poređenje između grupa; [&]poređenje unutar grupa

5. DISKUSIJA

U našoj studiji je učestvovalo 60 pacijenata, od toga 36 žena i 24 muškarca. Pacijenti su bili podeljeni u dve grupe, prvu koja je operisana klasičnom metodom i druga koja je operisana laparoskopski. U odnosu na opšte karakteristike razvrstani su po starosti, polu, BMI-u, i trajanju operacije, gde je od navedenih parametara bila značajna razlika u trajanju operacije, kod pacijenata operisanih klasičnom metodom je duže trajala operativna procedura (tabela 4.). Takođe je u našoj studiji primećeno duže vreme operacije u odnosu na prosečno vreme trajanja u inostranstvu (95) što se može pripisati tome što su u vreme našeg istraživanja tek počele da se rade laparoskopske holecistektomije, te nisu postojale adekvatne tehničke mogućnosti i dovoljno veliko iskustvo hirurškog tima.

Hirurška intervencija sama po sebi predstavlja vrstu traume na koju organizam razvija sistemski odgovor, koji je praćen različitim hematološkim, endokrinološkim, imunološkim i neurološkim promenama. Odgovor organizma na traumu manifestuje se stvaranjem citokina koji utiču na povećanu permeabilnost malih krvnih sudova što omogućava prvo urođenom imunskom odgovoru a zatim i stečenom da adekvatno reaguje, što dovodi do porasta u broju cirkulišućih leukocita, na prvom mestu polimorfonukleara kao i povišenim vrednostima parametara akutne faze kao što su IL-1, IL-6, TNF α i CRP.

Parametre inflamacije koje smo ispitivali kod pacijenata u našoj studiji su bile vrednosti leukocita, i CRP-a.

U našoj studiji pokazano je da je porast leukocita viši kod pacijenata kod kojih je učinjena otvorena holecistektomija kao i to da su vrednosti CRP bile više u ovoj grupi ali sa tom razlikom što je značajniji porast bio 24 sata nakon operacije, dok 72 sata nakon operacije nije bilo značajnije razlike u porastu (tabela 5). Slični rezultati su dobijeni u studiji koju su radili Grande i saradnici koji su ispitivali navedene parametre. (95) U navedenoj studiji su ispitivani gore navedeni parametri kod 40 pacijenata od kojih je 18 operisano laparoskopski a 22 klasično gde je primećen značajniji porast CRP-a i leukocita kod pacijenata operisanih klasičnom metodom.

TNF α spada u citokine koji imaju ulogu u regulaciji akutne faze inflamacije. TNF- α je citokin koji se luči u većem broju ćelija ali su njegov glavni izvor makrofagi i

monociti. On reaguje sa mnoštvom drugih citokina kao što su IT-1, interleukin-6 (IL-6), i faktor aktivacije trombocita (PAF), i ima ključnu ulogu u inflamatomom odgovoru (96, 97). Zbog kratkog poluživota u plazmi detekcija ovog markera predstavlja problem. Shodno tome, nedetektabilnost ili niski nivoi TNF α u serumu ne pokazuju uzajamnu vezu sa stvarnim dešavanjima u organizmu (98). Studija koju su radili Haq i saradnici u kojoj su ispitivane vrednosti IL-6 i TNF α kod 30 pacijenata kod kojih je učinjena holecistektomija, od toga 14 je operisano klasičnom metodom, a 16 laparoskopski. Uzorci krvi su uzimani preoperativno, nakon 4 i nakon 24 časa postoperativno gde je pokazan značajniji porast navedenih parametara kod grupe koja je operisana klasičnom metodom što bi moglo da ukaže da laparoskopska hirurgija uzrokuje manji stres u odnosu na klasičnu metodu.

U našoj studiji nije zabeležen značajniji porast TNF α kod grupe operisane laparoskopski, dok je kod grupe operisanih klasičnom metodom primećen značajan porast navedenog parametra u periodu od 24 do 72 sata postoperativno (tabela 6).

Citokini su vrsta proteina male molekularne težine. Stvaranje citokina je strogo regulisan proces i ekspresija citokina je kontrolisana faktorima transkripcije. Svi citokini vrše svoj efekat putem visoko specifičnih receptora na površini ćelije (99). Većina citokina ima višestruku aktivnost i pokazuju multiple funkcionalne efekte na širok broj ciljnih ćelija.

T-helper (Th) ćelije se diferentuju u odnosu na to koje citokine proizvode. Th1 ćelije su uključene u odbrambene mehanizme koji su ćelijski posredovani, kao što su mehanizmi odbrane od intraćelijskih patogena, a proizvode TNF- α , interleukin 2 (IL-2) i IFN- γ (100). Th 2 ćelije proizvode IL-4, IL-6, IL-10, i IL-11 i regulišu humoralni odgovor putem B ćelija (101). Različiti faktori mogu da utiču na diferencijaciju Th ćelija, uključujući citokinski profil sredine u kojima Th ćelije prolaze kroz proces transdiferencijacije. Th 1 i Th 2 citokinski produkti recipročno smanjuju aktivnost jedni drugima.

Interleukin 1 (IL-1) spada u proinflamatorne citokine. Inicira inflamatornu kaskadu i aktivira endotel, omogućujući migraciju neutrofila u postvenulski prostor. IL-1 tako rezultira u degranulaciji neutrofila, ekspresiji adhesionih molekula, i hemokinskoj aktivnosti. Poznata su dva oblika IL-1, IL-1 α i IL-1 β . IL-1 β se proizvodi od strane makrofaga kao proprotein, koji u svoju aktivnu formu prelazi nakon reakcije sa enzimom kaspaza 1, i utiče na ćelijsku diferencijaciju, proliferaciju i apoptozu, kao i jedan od induktora u stvaranju ciklooksigenaze 2 (COX 2). Za inicijaciju prenosa signala neophodni su IL-1 β , IL-1R-I, i IL-1RII, što otkrivaju studije o njihovim antitelima. IL-1R-I i Drosophila Toll receptor imaju značajnu homologiju strukture (102). Ovo proizilazi iz činjenice da IL-1R-I i Toll-like receptori (TLRs) proizilaze od zajedničkih predaka sa sličnošću strukture kao i funkcije. IL-1RII služi kao ligand za IL-1 jer se čvrsto vezuje za njega i onemogućava prenos signala. Antagonisti IL-1 receptora (IL-1ra) kompetitivno inhibiraju vezivanje receptora i sprečavaju prenos signala. Vezivanje IL-1 za receptore dovodi do nekoliko biohemijskih promena, fosforizaciju protein kinaze koja ima veze sa mitogenom (MAPK), aktivacija fosfataza i fosfolipaza nukleama translokacija transkripcionih faktora kao što su NF κ B i aktivator protein-1 (AP-1). IL-1 se stvara u prekursorskoj formi, pro-IL-1, koji biva aktiviran od strane aktivirajućeg enzima (ICE), koji takođe aktivira IL-18. Studija koju su radili Schietroma i saradnici u kojoj su ispitali promene u vrednostima citokina IL 1 i IL 6 kod pacijenata koji su operisani laparoskopski i klasičnom holecistektomijom (103) pokazano je da su vrednosti bile značajno povišene u grupi koja je operisana klasičnom metodom, najveće vrednosti su bile izmerene šest sati nakon operacije. Povišene vrednosti IL 1 su takođe bile izolovane u kulturi žuči pacijenata kod kojih je učinjena holecistektomija nakon epizode akutnog holecistitisa (38).

Rezultat naše studije je bio da su vrednosti IL-1 bile značajno povišene kod pacijenata operisane klasičnom metodom i izmerene između 24 i 72 sata postoperativno (tabela 7.). U bazalnim vrednostima preoperativno u našoj studiji nisu uočene značajne razlike između obe grupe.

Interleukin 2 (IL-2) predstavlja citokin koji stvaraju antigenom aktivirane T ćelije i koji deluje autokrino stimulišući proliferaciju T ćelija, a takođe potencira rast i otpornost regulatornih T ćelija (39). Spada u grupu citokina koja u svojoj strukturi ima četiri alfa heliksa, u koju pored IL 2 spadaju i IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 and IL-21. IL 2 prenosi signale ćeliji preko IL 2 receptora koji se sastoje iz tri subjedinice, alfa, beta i gama. Gama lanac sadrže receptori svi članova ove grupe (40). S obzirom na to da trenutno nisu rađene obuhvatnije studije, navešćemo prikaz slučaja pacijenta kod kojeg je prilikom ehosonografskog ispitivanja uočeno zadebljanje zida žučne kese u toku tretmana IL-2 zbog maligne bolesti bubrega, gde je postavljena hipoteza o tome da li IL-2 može delovati na navedeni način na zid žučne kese ali su potrebne veće multidisciplinarne studije koji bi mogle da potvrde ili odbace navedenu pretpostavku (41).

U našoj studiji ispitanika operisanih klasično metodom i grupe operisane laparoskopski, nije pronađena razlika u preoperativnim bazalnim vrednostima, (tabela 8). U narednim periodima praćenja 24^h i 72^h postoperativno, značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su kod ispitanika operisanih klasičnom metodom. Unutargrupnom analizom vrednosti IL-2, značajna promena vrednosti ovog parametra uočena je kod obe analizirane grupe, (tabela 8). U grupi operisanih klasičnom metodom unutar prvih 24^h posle operacije nije zapažena značajna promena vrednosti IL-2 međutim u periodu od 24^h do 72^h, dolazi do porasta vrednosti ovog parametra Kod ispitanika kod kojih je učinjena laparoskopska holecistektomija u prvih dvadeset četiri sata, nije zabeležena značajna promena IL-2 dok se u narednih četrdeset osam sati beleži pad vrednosti ovog parametra tako da su na kraju trodnevnog perioda praćenja svi ispitanici iz ove grupe imali nemerljive vrednosti ovog parametra.

Interleukin 4 (IL-4) stvaraju Th 2 ćelijska subpopulacija CD 4 „helper“ limfocita čija je osnovna funkcija da pokrene diferencijaciju TH 2 ćelija od CD 4 prekursora, da stimuliše B ćelije u stvaranju IgE antitela i IgG1 kao i da suprimira funkcije makrofaga koje zavise od posredovanja interferona γ (36). Po svojoj strukturi IL-4 poseduje globularnu formu koja je stabilizovana sa tri disulfidne veze (42). Signali koji omogućavaju navedeni efekat IL-4 se

prenose preko IL-4R α receptora i postoje četiri podtipa IL-4R α . Njegovo efekat je suprotan efektu INF γ te na taj način IL-4 podstiče humoralni, a inhibira celularni imuni odgovor (104). U jednoj studiji u kojoj su poređene vrednosti leukocita, IL-4, IL 6, IL-10 i INF γ preoperativno i prvog postoperativnog dana kod pacijenata kod kojih je učinjena laparoscopska holecistektomija gde nije utvrđena značajna razlika u vrednostima INF γ , IL-4 i IL 10 ali je utvrđen značajan skok IL 6. Slični rezultati su dobijeni u studiji u kojoj su Helmy i saradnici ispitivali razlike vrednosti IL1 β , IL 2, IL 4, IL 6, TNF α i INF γ kod pacijenata operisanih klasičnom metodom i laparoscopski ali i utvrđivanje postojanje uticaja opšte intravenske anestezije na imunosupresiju koja nastaje zbog hirurške intervencije (105). U navedenoj studiji je takođe pokazano da opšta intravenska anestezija nije dovela do značajnijeg efekta na promenu vrednosti IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α i INF- γ ali se uočio pad IL-2 koji je bio povezan sa uticajem anestezije dok je kod grupe operisane klasičnom metodom postojao značajan skok i anti i proinflatornih citokina postoperativno što bi dodatno moglo da govori u prilog tome da laparoscopska hirurgija dovodi do manje imunosupresije.

Rezultati naše studije ukazuje na to da između preoperativno izmerenih vrednosti IL-4 nije bilo značajne razlike između pacijenata operisanih klasičnom metodom i kod operisanih laparoscopski, (tabela 9). Vrednosti ovog parametra izmerene 24^h i 72^h posle operacije, su bile veće kod pacijenata operisanih laparoscopski, (tabela 9). Unutargrupnom analizom vrednosti ovog parametra, značajne promene tokom posmatranog perioda praćenja uočene su i kod ispitanika operisanih klasičnom metodom i kod grupe operisane laparoscopski, (tabela 9). Kod ispitanika operisanih klasičnom metodom nije došlo do značajne promene vrednosti IL-4 tokom prvih 24^h, postoperativno. Kod pacijenata operisanih klasičnom metodom uočen je porast vrednosti IL 4 između 24 i 72 sata dok kod grupe operisane laparoscopski dolazi do pada vrednosti nakon 72 časa.

Interleukin 5 (IL-5) spada u citokine koje stvaraju Th2 T helper ćelije i mastociti. Svoj efekat ispoljava putem IL-5 receptora. Ima značajnu ulogu u uticaju na rast i razvoj B limfocita i samim tim na veću produkciju antitela. IL-5 receptor se sastoji od alfa i beta

subjedinice (46). Alfa jedinica je specifična za sam IL-5 dok se za beta subjedinicu može vezati i IL3 i GM CSF hematopoetski factor (46, 47). Po svojoj strukturi je homodimer i sastoji se od 115 aminokiselina i informacija za njegovu sintezu se nalazi na petom hromozomu. Povezan je sa nastankom ozbiljnih alergijskih reakcija kao i astmatičnih statusa gde je kod navedenih poremećaja primećena njegova povišena koncentracija u perifernoj krvi (49) a takođe i na uticaj u stvaranju većeg broja eozinofila u alergijskim reakcijama kao i kod nekih oboljenja limfopoetskog sistema kao što je Hodgkin-ova bolest (50).

Vrednosti IL-5 u našoj studiji izmerene preoperativno nisu bile značajno različite između grupe operisane klasičnom metodom i grupe operisane laparoskopski. U obe analizirane grupe tokom postoperativnog perioda praćenja, uočene su značajne promene vrednosti IL-5. U grupi operisane klasičnom metodom, nije zabeležena značajnija promena vrednosti ovog parametra tokom prvih 24^h dok se u daljem periodu od 24^h do 72^h, zapaža se značajan porast vrednosti IL-5 u ovoj grupi ispitanika (tabela 10.). Kod grupe operisane laparoskopski, nije uočena značajna promena vrednosti IL-5, 24^h posle operacije (tabela 10), dok se u narednom periodu do 72^h, posle operacije zapaža značajno smanjenje IL-5 u grupi operisane laparoskopski, kada su kod svih ispitanika vrednosti ovog parametra bile nemerljive (tabela 10).

Interleukin 6 (IL-6) stvaraju brojni tipovi ćelija kao što su aktivirani mononuklearni fagociti, endotelne ćelije i fibroblasti. Ulogu u stečenoj i urođenoj imunosti ispoljava na taj način što stimuliše sintezu proteina akutne faze od strane hepatocita i podstiče rast B limocita koji produkuju antitela (36). Predstavlja značajan medijator u akutnoj fazi inflamacije, poseduje sposobnost prolaska krvno moždane barijere, dolazi do hipotalamusa koji stimuliše sekreciju PgE-2 što dovodi do povišenja telesne temperature. Svoje dejstvo IL-6 ispoljava preko IL-6 receptora koji se sastoji od IL-6 receptorske subjedinice i IL-6 prenosioca signala (glikoproteina 130) poznatijeg i pod nazivom CD 130. CD 130 je prenosnik signala koji dolazi od drugih hemokina kao što su LIF (leucaemia inhibitory factor), CNF (ciliary neurotropic factor), oncostatin M, Il 11i kardiotropin 1. Takođe IL-6

ima ulogu i stimulaciji rada osteoklasta tako što ga sekretuju osteoblasti i inflamacije u glatkim mišićnim ćelijama. Kao što je već navedeno IL-6 spada u medijatore akutne faze zapaljenja i fiziološkog odgovora na traumu i njegov porast često korelira sa povišenim mortalitetom i morbiditetom nakon traume ili hirurške intervencije. Studija u kojoj su Madureira i saradnici ispitivali promene u vrednostima IL 6 i CRP-a između dve grupe pacijenata od kojih je jedna operisana „single port” laparoskopski i multiportnom laparoskopskom metodom. Vrednosti navedenih parametara su određivane u toku uvoda u anesteziju, 3 sata postoperativno i nakon 24 časa (56). U navedenoj studiji je utvrđena je statistički značajna razlika u vrednostima IL-6 tri sata postoperativno gde su vrednosti bile veće kod grupe operisane multiportnom tehnikom ali bez značajnije razlike nakon 24 časa postoperativno što bi moglo da ukazuje na to da „single port” tehnika može izazvati inicijalno manji inflamatorni odgovor ali koji se ne održava dugo (56). Za razliku od navedene situacije gde su u oba slučaja poređene minimalno invazivne tehnike, u slučaju poređenja klasične i laparoskopske metode, vrednosti IL-6 su bile značajno više kod grupe operisane klasičnom metodom, što je u nekim studijama i potvrđeno (68,105).

U našoj studiji preoperativne vrednosti IL-6 nisu se značajno razlikovale između pacijenata operisanih klasičnom metodom i grupe operisane laparaskopski (tabela 11). Značajno veće vrednosti IL-6 izmerene su 24^h posle operacije kod pacijenata operisanih klasičnom metodom. 72^h posle operacije vrednosti IL-6 u grupi ispitanika operisanih klasičnom metodom bile su značajno veće od vrednosti izmerenih u grupi operisane laparaskopski. Analizom unutargrupnog variranja vrednosti IL-6, statistički značajna promena nije uočena kod ispitanika operisanih klasičnom metodom, dok je kod ispitanika operisanih laparaskopski uočeno statistički značajno smanjenje vrednosti ovog parametra tokom trodnevnog perioda praćenja, (tabela 11). U ovoj grupi, statistički značajna razlika uočena je samo između preoperativnih vrednosti IL-6 i vrednosti izmerenih 72^h posle operacije.

Interleukin 9 (IL-9) je pleotropni interleukin koji svoje dejstvo ispoljava na limfocitima, mastocitima, hemopoetskim ćelijama, respiratornom epitelu i glatkoj mišićnoj muskulaturi bronha. Svoje dejstvo eksprimira putem IL-9 receptora poznatiji i pod nazivom CD 129, i

spada u tip 1 citokinske receptore. Najčešće se njegovo dejstvo povezuje u astmatičnoj reakciji (57) kao i antiparazitarnom dejstvu (58) ali se pretpostavlja i da ima ulogu u Th1/Th17 I Treg reakcijama. Glavni sekretori IL-9 su T limfociti, faktori koji utiču na sekreciju su trenutno nedovoljno ispitani ali se pretpostavlja da više citokina utiče na produkciju IL-9.

Vrednosti ovog parametra izmerene u našoj studiji ukazuju da nije bilo značajne razlike u preoperativnim vrednostima IL-9, (tabela 12). U obe grupe je nakon 24 časa postoperativno došlo do porasta u vrednostima ovog parametra međutim nakon analize uzorka 72 časa nakon operacije uočava se pad u vrednostima IL 9 kod grupe operisane laparoskopski dok se kod grupe operisane klasičnom beleži značajan porast (tabela 12).

Interleukin 10 (IL-10) je po svojoj strukturi homodimer čije se subjedinice sastoje od 178 aminokiselinskih parova. Spada u klasu 2 citokina, u koju spadaju IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 (Mda-7), IL-26, interferoni (IFN-alpha, -beta, -epsilon, -kappa, -omega, -delta, -tau, and -gamma) interferonima slični molekuli. (limitin, IL-28A, IL-28B, and IL-29). Stvaraju ga aktivirani makrofazi I neki T helper limfociti, čija je glavna funkcija da inhibira aktivirane makrofage i time održi homeostatsku kontrolu urođene i stečene imunosti (59). Njegova funkcija se ispoljava tako što smanje ekspresiju Th 1 citokina i MHC II antigena. IL-10 takođe oslobađaju T citotoksični limfociti čime se smanjuje efekat NK ćelija u virusnim infekcijama. U nekim studijama je pokazano se vrednosti IL-10 povećavaju u toku fizičke aktivnosti putem miokina (60) i smanjenju vrednost kod pacijenata obolelih od multiple skleroze (61).

U jednoj novijoj studiji su Aspinen i saradnici. ispitivali dali postoji povećanje vrednosti IL-1b, IL-1ra, IL-6, IL-8, IL-10 I CRP kod pacijenata kod kojih je učinjena holecistektomija laparoskopski I kod onih kod kojih je učinjena putem mini laparotomije (62). Vrednosti su merene preoperativno, neposredno nakon operacije i šest sati nakon operacije. Utvrđeno je da je inflamatorni odgovor bio sličan i kod jedne i kod druge grupe, i da vrednosti IL-8, IL-10 I IL-1b nisu pokazale statistički značajnu razliku u obe grupe. Utvrđeno je da su vrednosti IL 6 bile više kod grupe kod koje je učinjena holecistektomija

putem mini laparotomije (62). Brune i sar. su u svojoj studiji ispitivali razliku u porastu vrednosti interferona (IFN)- γ , interleukina (IL)-2, IL-4, tumor necrosis factor (TNF)- α , i IL-10 kod pacijenata operisanih klasičnom metodom i pacijenata operisanih laparoskopski (106) gde je utvrđeno da kod pacijenata operisanih laparoskopski nije došlo do značajne razlike u sekreciji antiinflamatornih citokina preoperativno i postoperativno što bi moglo dodatno da ukazuje na to da minimalno invazivna hirurgija zaista dovodi do smanjene traume i samim tim smanjenjem sistemskog odgovora (106). U jednoj studiji je takođe ispitivan i uticaj gasa za formiranje pneumoperitoneuma na promene vrednosti citokina (107). Ispitivane su vrednosti citokina TNF α , IL-1b, IL-6, IL-10 i vrednosti ACTH i kortizola kod 17 pacijenata, od kojih je kod 9 pneumoperitoneum formiran sa CO₂ i kod 8 sa vazduhom gde je utvrđen porast vrednosti kod pacijenata kod kojih je uz pomoć čistog vazduha formiran pneumoperitoneum (107).

I u slučaju IL-10 nije bilo značajne razlike u preoperativnim vrednostima u obe grupe u našoj studiji (tabela 13). U obe grupe se beleži porast vrednosti 24 časa postoperativno s tim što je porast kod grupe operisane klasičnom metodom bio značajno veći. U grupi operisane laparoskopski se između 24 i 72 časa postoperativno beleži pad u vrednosti IL 10 dok se kod grupe operisane klasičnom metodom i dalje beleži porast vrednosti ovog parametra (tabela 13).

Interleukin 12 (IL-12) je po svojoj strukturi heterodimerski citokin koji se sastoji iz dve subjedinice, IL 12A (p35) i IL 12B (p40). Aktivni heterodimer IL-12 je „p70”. Stvaraju ga mononuklearni fagociti i dendritske ćelije. Služi kao medijator odgovora urođene imunosti na intracelularne mikroorganizme i kao ključni induktor celularnog imunskog odgovora na njih (63). IL 12 aktivira NK ćelije, pokreće stvaranje INF γ i citotoksičnih T limfocita kao i pokretanje Th1 ćelija putem JAK-STAT signalnog puta.

U našoj studiji preoperativne vrednosti IL-12 nisu bile značajno različite između grupe operisane laparoskopski i grupe operisane klasičnom metodom. Značajna promena u vrednostima IL-12, zapažena je kod grupe operisane klasičnom metodom (tabela 14). Tokom prvih 24^h nije došlo do značajne promene vrednosti ovog parametra u ovoj grupi

ispitanika. Međutim, značajan porast IL-12 kod pacijenata operisanih klasičnom metodom zabeležen je u periodu od 24^h do 72^h. Vrednosti IL-12 izmerene na kraju perioda praćenja bile su statistički značajno veće nego vrednosti ovog parametra izmerene preoperativno (tabela 14).

Interleukin 13 (IL-13) predstavlja citokin koji najviše proizvode aktivirane Th 2 ćelije. IL - 13 ima ulogu u nekoliko stadijuma maturacije i diferencijacije B ćelija. Dejstvo ispoljava tako što podstiče ekspresiju MHC II i CD 23, a takođe ima značajnu ulogu u diferencijaciji B ćelija da proizvode IgE antitela koja su ključna u anafilaksi. Pored navedenih IL-13 negativnom povratnom spregom utiče na aktivnost makrofaga, i time smanjujući stvaranje proinflammatoryh citokina. Potvrđeno je da IL 13 ima značajnu ulogu u alergeni zavisnoj bronhijalnoj astmi (64) ali svoje dejstvo ispoljava nezavisno od eozinofila i IgE antitela.

Preoperativne vrednosti IL-13, nisu se značajno razlikovale između obe grupe pacijenata, tabela 15. Tokom daljeg perioda praćenja, 24^h i 72^h postoperativno, značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su kod ispitanika operisanih klasično metodom, (tabela 15). Unutargrupnom analizom, značajne promene vrednosti IL-13 uočene su u obe analizirane grupe ispitanika, (tabela 15). U toku prvih 24^h posle operacije, vrednosti IL-13 nisu se statistički značajno menjala ni kod pacijenata operisanih klasično ni kod pacijenata operisanih laparoskopski. U toku daljeg praćenja u periodu od 24^h do 72^h, došlo je do značajne promene vrednosti IL-13 u obe analizirane grupe, Kod pacijenata operisanih klasičnom metodom u ovom periodu došlo je do statistički značajnog porasta vrednost IL-13 dok je kod grupe operisane laparoskopski zapažen statistički značajan pad vrednosti ovog parametra.

Grupa interleukina 17 čine IL-17a, IL- 17b, IL-17c, IL-17d, IL-17e, IL-17f (poznatiji pod nazivom IL-25), od kojih IL 17 A ima vodeću ulogu u proinflammatoryh reakcijama naročito odloženih, tako što mobilise monocite i neutrofile na mesto inflamacije i deluje sinergistički sa TNF α i IL-1. Pored navedenih IL 17 ima ulogu u indukciji stvaranja i drugih citokina kao što su IL-6, G-CSF, GM-CSF, IL-1 β , TGF- β , TNF- α . Po svojoj strukturi IL 17 je glikoprotein homodimer, gde su jedinice povezane disulfidnim vezama.

Najviše ga stvaraju Th 17 CD 4 T helper limfociti. Dokazano je takođe da IL 17 ima ulogu i u nastanku nekih autoimunskih oboljenja: psorijaze (65), lupusa (66), i drugih autoimunskih oboljenja.

U našoj studiji nije uočena statistički značajna razlika u preoperativnim vrednostima IL 17 u obe grupe, (tabela 16). U narednim periodima posmatranja, 24^h i 72^h, postoperativno, statistički značajno veće vrednosti ovog parametra izmerene su kod ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese, (tabela 16). Nismo našli značajne promene vrednosti ovog parametra zabeležene unutar obe analizirane grupe ispitanika, (tabela 16). U grupi sa klasičnom operacijom žučne kese nije uočena značajna promena vrednosti IL-17 unutar prvih 24^h posle operacije. Primećen je značajan porast vrednosti ovog parametra u narednom periodu, tako da su vrednosti IL-17 izmerene kod ispitanika sa ovim operativnim pristupom, 72^h posle operacije bile značajno veće od onih izmerene 24^h posle operacije, kao i od vrednosti IL-17 izmerenih preoperativno. U grupi operisani laparoskopski vrednosti IL-17, 24^h, nismo našli značajnu razliku u odnosu na one izmerene preoperativno dok su u periodu do 72^h posle operacije vrednosti ovog parametra bile značajno smanjene.

Interleukin 22 (IL-22) spada u grupu interleukina IL 10 zajedno sa IL-19, IL-20, IL-24, i IL-26. Ima ulogu u iniciranju mehanizama urođene imunosti protiv bakterijskih patogena naročito u plućnom tkivu i u gastrointestinalnom traktu. Po svojoj strukturi, IL-22 je α -helikal citokin, a svoj mehanizam dejstva IL-22 ispoljava tako što se vezuje za heterodimerični receptor na ćelijskoj površini koji se sastoji od IL-10R2 i IL-22R1 pođedinica (67).

U našoj studiji utvrdili smo da nije bilo značajne razlike u preoperativnim vrednostima IL-22 u obe grupe (tabela 17). Utvrdili smo da je u postoperativnom toku kod pacijenata operisanih klasičnom metodom došlo do skoka vrednosti IL-22 dok kod pacijenata operisanih laparoskopski je došlo do pada (tabela 17).

Interferon gama spada u grupu 2 interferona, po svojoj strukturi IFN- γ monomer se sastoji od osnove sa šest α -heliksa i proširene ne-savijene sekvence u C-terminalnom regionu.

Veoma je značajan u aktivaciji mehanizama urođene i stečene imunosti, protiv virusa, bakterija i parazita. IFN- γ je odgovoran za: Povećanu antigen prezentaciju makrofaga, aktivaciju i povećanje lizozomske aktivnosti u makrofagima, umanjuje aktivnost Th2 ćelija, utiče na ekspresiju MHC II, promovise adheziju i vezivanje neophodno za migraciju leukocita, aktivnost NK ćelija, aktivira APC ćelije, i promovise Th1 diferencijaciju, aktivira inducibilnu NO sintetazu iNOS (36). U nekoliko studija je potvrđena značajna razlika u vrednostima kod pacijenata operisanih laparoskopski i onih operisanih klasičnom metodom gde su pronađene veće vrednosti kod pacijenata operisanih klasičnom metodom. (104, 105, 106).

U našoj studiji takođe nije bilo značajne razlike u preoperativnim vrednostima kod obe grupe (tabela 18). Kod obe grupe je primećen porast vrednosti 24 časa postoperativno s tim što su vrednosti ovog parametra bile veće kod pacijenata operisanih klasičnom metodom. U grupi operisane laparoskopski, vrednosti IFN γ nisu se značajno menjale tokom prvih 24^h, dok su se značajno smanjile u periodu od 24^h do 72^h. Na kraju perioda praćenja vrednosti IFN γ , kod pacijenata operisanih laparoskopski bile su značajno manje nego preoperativno (tabela 18).

Faktor transformacije rasta beta „transforming growth factor beta” predstavlja multifunkcionalni citokin koji pripada porodici TGF β grupi citokina u koju spadaju TGF β -1, TGF β -2 I TGF β -3 . Stvaraju ga mnoge vrste ćelija kao što su makrofazi, i u svojoj latentnoj formi je vezan za dva druga polipeptida LTBP (latent TGF β binding protein) I LAP (latency associated protein). Aktivaciju TGF β podstiču serumske proteinaze. Ovaj proces se obično dešava na površini makrofaga gde se inaktivni TGF β kompleks vezuje za CD 36 putem svog liganta TSP-1(trombospondin 1). Inflamatorni procesi koji aktiviraju makrofage dodatno indukuju stvaranje plazmina. Makrofagi takođe mogu putem endocitoze da unesu IgG vezane latentne TGF β kompleks. TGF β spada u antiinflamatorne citokine ima ulogu u regulaciji inflamatornih procesa kao i u diferencijaciji i regulaciji T ćelija

U našoj studiji nije uočena značajna razlika u vrednostima TGF β preoperativno i 24^h posle operacije, između obe grupe (tabela 19). Između preoperativnih i vrednosti TGF β izmerenih 24^h posle operacije, nije uočena značajna razlika ni u jednoj od posmatranih

grupa. Ista dinamika promene vrednosti ovog citokina zabeležena je i kod ispitanika operisanih laparoskopski. I u ovoj grupi ispitanika u narednom periodu, od 24^h do 72^h posle operacije, beleži se značajan porast vrednosti TGFβ, tako da su vrednosti ovog parametra izmerene na kraju perioda praćenja bile značajno veće i od preoperativnih vrednosti i od vrednosti izmerenih 24^h posle operacije (tabela 19).

Oksidativni stres zapravo predstavlja oštećenje tkiva koja nastaje pod uticajem reaktivnih oblika kiseonika a koja je posledica nemogućnosti antioksidacionog sistema da detoksikuje reaktivne oblike kiseonika odnosno azota. Prekursor praktično svih reaktivnih oblika kiseonika jeste superoksid (O_2^-) od kojeg nastaju drugi reaktivni oblici kiseonika među kojima su peroksidi, hidroksil radikali, i „singlet“ kiseoni. U odnosu na njihovo poreklo, reaktivni oblici kiseonika se mogu podeliti na egzogene koji nastaju kao posledica unosa različitih ksenobiotika, uticaja jonizujućeg zračenja i drugih mnogobrojnih štetnih spoljašnjih uticaja (73), dok endogeni nastaju putem intracelularnih mehanizama među kojima najveću produktivnost ima mehanizam putem NADPH oksidaze u ćelijskoj membrani, peroksizomima, mitohondrijama i endoplazmatskom retikulumu (74, 75). Antioksidansi enzim koji reverzira ovaj proces jeste superoksid dismutaza. Pored reaktivnih oblika kiseonika, drugi po važnosti jesu i reaktivni oblici azota koji nastaju od azot monoksida (NO).

Azot monoksid sam po sebi ima značajnu ulogu u prenosu celularnih signala i kao antioksidans, ali njegove brze reakcije sa drugim slobodnim radikalima na prvom mestu sa superoksidom O_2^- i tako formirajući peroksinitrit ($ONOO^-$) (81, 82) koji je veoma reaktivan sa većinom postojećih biomolekula čime indukuje celularno oštećenje. Pokazano je u brojnim studijama da je NO i do 300 puta reaktivniji sa kiseonikom u hidrofobnim sredinama kao što je ćelijska membrana nego u hidrofiličnim (83, 84) što uzrokuje ubrzano stvaranje intermedijernih produkata reakcije sa kiseonikom kao što su N_2O_3 , N_2O_4 , i slobodni radikal NO_2 koji je glavni inductor peroksidacije lipida (85). Međutim samo izlaganje lipida NO neće dovesti do peroksidacije, već je inhibira (86, 87) ali će kontinuirano izlaganje lipida NO i O_2^- nitrozovanih derivata lipida.

U biološkim sistemima glavni izvor reaktivnih oblika azota jeste NO kao što je već navedeno. Procenjuje se da koncentracija NO iznosi oko 20 nM–2 μM koliko otprilike proizvodi azot monoksidna sintetaza (NOS) (87, 88). Brze reakcije NO sa slobodnim radikalima dovode do stvaranja reaktivnih produkata od kojih je najreaktivniji peroksinitrit (ONOO^-). Iako se najveći deo NO proizvodi putem NOS postoje i drugi metabolički putevi kao što je nitritni koji je izraženiji u stanjima inflamacije i ishemije. Polat i saradnici su ispitali uticaj intraabdominalnog pritiska na peroksidaciju i oksidaciju proteina kod 24 pacijenata kojih je učinjena laparoskopna holecistektomija. Oni su bili podeljeni u grupu kod kojih je pneumoperitoneum formiran na 10 mm Hg i grupu kod koje je formiran na 15 mm Hg. Kod obe grupe je primećen porast markera koji ukazuju na peroksidaciju tkiva ali bez statistički značajne razlike između grupa (94).

U našoj studiji nismo našli statistički značajne ni u jednom od analiziranih vremena praćenja parametra (tabela 20).

Nitrotirozin odnosno 3 nitrotirozin predstavlja produkt koji nastaje nakon nitracije tirozina posredstvom reaktivnih oblika azota, kao što su peroksi nitrit i azot dioksid. Njegove vrednosti su povišene u brojnim stanjima i smatra se da se može koristiti kao marker NO posredovanog oksidativnog stresa. Može se detektovati u različitim telesnim tečnostima kao što je plazma, aspirat bronha ili njegov metabolit u urinu NHPA.

Nismo našli podatke u literaturi vezane za razlike vrednosti markera NO posredovanog oksidativnog stresa kod pacijenata kod kojih je učinjena holecistektomija. Međutim u jednoj studiji su ispitivane razlike markera nastalih posredstvom NO zavisnog oksidativnog stresa kod pacijenata kod kojih je učinjena otvorena i laparoskopna resekcija zbog kolorektalnog tumora (108). Određivane su vrednosti 8epiPGF_2 , PC, 3NT I 8 OHG. Uzorci su uzimani preoperativno, pet minuta, šest sati i 24 časa nakon operacije. Vrednosti 3 nitrotirozina (3-NT) nisu ukazivale na statističku značajnost u vrednosti ovog parametra između ove dve grupe (108). Studija u kojoj su Stipančić i saradnici ispitali promene vrednosti markera oksidativnog stresa kod pacijenata operisanih klasičnom metodom laparoskopni

utvrđeno je da postoji izraženiji porast markera kod grupe klasičnom metodom (109). Slični rezultati su dobijeni i u studiji koju su radili Hong i saradnici (110).

U našoj studiji nisu se značajno razlikovale bazalne vrednosti ovog parametra kod obe grupe preoperativno (tabela 21). U periodu između 24^h i 72^h nakon operacije, niže vrednosti ovog parametra zabeležene su kod ispitanika operisanih laparaskopski. Vrednosti NT kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žučne kese nisu se statistički značajno menjale u periodu do 72^h postoperativno, (tabela 21). Kod ispitanika operisanih klasično uočeno je da su se vrednosti NT tokom prvih 24^h posle operacije značajno povećele a zatim u naredna 24^h došlo je do značajnog smanjenja vrednosti ovog parametra (tabela 21). Između preoperativnih vrednosti NT izmerenih u ovoj grupi ispitanika i vrednosti izmerenih 72h posle operacije nismo uočili statistički značajnu razliku.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu istraživanja u ovoj studiji došli smo do sledećih zaključka:

1. Vrednosti koncentracije TNF α su u visokoj korelaciji sa ishodom operativnog lečenja kod grupe ispitanika koji su operativno lečeni klasičnom metodom, u odnosu na pacijente operisane laparoskopski.
2. Vrednosti koncentracije IL-1 kod ispitanika operisanih klasičnom metodom, postoji blagi porast IL-1 zabeležen već 24h nakon operacije, dok je do statistički značajnog porasta vrednosti ovog parametra došlo 72h nakon operacije u odnosu na pacijente operisane laparoskopski.
3. Vrednosti koncentracije IL-2 pokazuju značajno povećanje vrednosti u periodu praćenja u poslednjih 24 sata kod pacijenata operisanih klasičnom metodom dok kod laparoskopski operisanih pacijenata te vrednosti su u referentnim vrednostima.
4. Vrednosti koncentracije IL-4 pokazuju značajno povećanje u toku praćenja kod pacijenata operisanih klasičnom metodom dok kod pacijenata operisanih laparoskopski ne postoji povećanje vrednosti ovog parametra.
5. Vrednosti koncentracije IL-5 pokazuju značajnu korelaciju sa tkivnim oštećenjem kod klasičnih u odnosu na laparoskopske operacije.
6. Vrednosti koncentracije IL-6 su u visokoj korelaciji sa ishodom operativnog lečenja kod pacijenata operisanih klasičnom metodom što odgovara ranim prediktorima sistemskog zapaljenskog odgovora u odnosu na pacijente operisane laparoskopski što korelira sa podacima iz savremene literature.
7. Vrednosti koncentracije IL-9 pokazuju visoko značajnu korelaciju sa nastankom izraženijim sistemskim odgovorom kod pacijenata operisanih klasičnom metodom.
8. Vrednosti koncentracije IL-10 pokazuju visoku korelaciju sa rastom vrednosti kod pacijenata operisanih klasičnom metodom dok kod pacijenata operisanih laparoskopski pokazuju tendenciju pada nakon drugog merenja. Ova tendencija je pokazana i u podacima iz literature.
9. Vrednosti koncentracije IL-12 ukazuju na vrlo visoku korelaciju sa vrednostima CRP-a te se može uzeti kao marker inflamacije u toku operativnog lečenja.

10. Vrednosti koncentracije IL-13 pokazuju značajan porast kod pacijenata operisanih klasičnom metodom u odnosu na pacijente operisane laparoskopski.
11. Vrednosti koncentracije IL 17 ukazuju na značajan porast kod pacijenata operisanih klasičnom metodom dok kod pacijenata koji su operisani laparoskopskih nema statistički značajnih promena u vrednosti ovog parametra.
12. Vrednosti koncentracije IL 22 su se značajno promenile nakon drugog merenja, i nisu značajno menjale svoje vrednosti kod pacijenata operisanih klasičnom metodom dok kod pacijenata operisanih laparoskopski nije bilo tendencije rasta u odnosu na preoperativno merenje.
13. Vrednosti koncentracije TGF β pokazuje vrlo visoku tendenciju rasta u sva tri merenja kod obe grupe. Potrebne su dodatne multicentrične studije zbog daljeg ispitivanja uloge TGF β u sistemsku odgovoru na trauma.
14. Promene koncentracije NO i NT u merenjima u našoj studiji u obe grupe nisu pokazale statističku značajnost u obe grupe što korelira sa rezultatima iz poznate literature. Potrebne su dodatne multicentrične studije.
15. Laparoskopska operacija je metoda izbora za lečenje pacijenata sa holelitijazom zbog smanjenog postoperativnog bola, kraćeg oporavka i kraćeg vremena hospitalizacije kao i broja postoperativnih dana.

7. LITERATURA

- 1) Shaffer EA. Epidemiology and risk factors for gallstone disease: has the paradigm changed in the 21st century? *Curr Gastroenterol Rep.* 2005;7:132–140
- 2) Shaheen NJ, Hansen RA, Morgan DR, et al. The burden of gastrointestinal and liver diseases, 2006. *Am J Gastroenterol.* 2006;101:2128–2138.
- 3) Kang JY, Ellis C, Majeed A, et al. Gallstones: an increasing problem: a study of hospital admissions in England between 1989/1990 and 1999/2000. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;17:561–569
- 4) Zacks SL, Sandler RS, Rutledge R, Brown RS., Jr A population-based cohort study comparing laparoscopic cholecystectomy and open cholecystectomy. *Am J Gastroenterol.* 2002;97:334–34
- 5) Ando, Hisami. "Embryology of the biliary tract." *Digestive surgery* 27.2 (2010): 87-89.
- 6) <http://pathologyoutlines.com/topic/gallbladderhistology.html>, poslednji pristup 17.4.2016 18:12
- 7) Behar, Jose. "Physiology and pathophysiology of the biliary tract: The gallbladder and sphincter of Oddi—A review." *ISRN Physiology* 2013 (2013).
- 8) K. Sonobe, T. Sakai, M. Sato, N. Haga, and Z. Itoh, "Control of gallbladder contractions by cholecystokinin through cholecystokinin-A receptors in the vagal pathway and gallbladder in the dog," *Regulatory Peptides*, vol. 60, no. 1, pp. 33–46, 1995
- 9) M. Cicala, E. Corazziari, D. Diacinti, D. Badiali, and A. Torsoli, "Effect of endogenous cholecystokinin on postprandial gallbladder refilling: ultrasonographic study in healthy subjects and in gallstone patients," *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 40, no. 1, pp. 76–81, 1995.
- 10) Dockray, Graham J. "Cholecystokinin." *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* 19.1 (2012): 8-12.
- 11) Pham, T. H., and J. G. Hunter. "Gallbladder and the Extrahepatic Biliary System." *Schwartz's principles of surgery.* 10th ed. New York: McGraw-Hill (2014).

- 12) Trowbridge RL, Rutkowski NK, Shojania KG. Does this patient have acute cholecystitis? *JAMA*. 2003;289:80
- 13) Yokoe, Masamichi, et al. "New diagnostic criteria and severity assessment of acute cholecystitis in revised Tokyo Guidelines." *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences* 19.5 (2012): 578-585.
- 14) Gurusamy, K., et al. "Meta-analysis of randomized controlled trials on the safety and effectiveness of early versus delayed laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis." *British journal of surgery* 97.2 (2010): 141-150.
- 15) Yoshida, Masahiro, et al. "Antimicrobial therapy for acute cholecystitis: Tokyo Guidelines." *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery* 14.1 (2007): 83-90.
- 16) Solomkin, Joseph S., et al. "Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America." *Clinical infectious diseases* 50.2 (2010): 133-164.
- 17) van Dijk, A. H., et al. "Systematic review of antibiotic treatment for acute calculous cholecystitis." *British Journal of Surgery* (2016).
- 18) Wang, Chih-Hung, et al. "Long-term outcome of patients with acute cholecystitis receiving antibiotic treatment: a retrospective cohort study." *World journal of surgery* 38.2 (2014): 347-354.
- 19) Gomi, Harumi, et al. "TG13 antimicrobial therapy for acute cholangitis and cholecystitis." *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences* 20.1 (2013): 60-70.
- 20) Liu, Jianjun, et al. "Acute cholecystitis associated with infection of Enterobacteriaceae from gut microbiota." *Clinical Microbiology and Infection* 21.9 (2015): 851-e1.
- 21) Karpel E, Madej A, Buldak L, et al. Bile bacterial flora and its in vitro resistance pattern in patients with acute cholangitis resulting from choledocholithiasis. *Scand J Gastroenterol*. 2011; 46: 925-930.
- 22) Wu T, Zhang Z, Liu B, et al. Gut microbiota dysbiosis and bacterial community assembly associated with cholesterol gallstones in large-scale study. *BMC Genomics*. 2013; 14: 669.

- 23) Wells JE, Berr F, Thomas LA, Dowling RH, Hylemon PB. Isolation and characterization of cholic acid 7 α -dehydroxylating fecal bacteria from cholesterol gallstone patients. *J Hepatol.* 2000; 32: 4-10.
- 24) Sayin SI, Wahlstrom A, Felin J, et al. Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring fxr antagonist. *Cell Metab.* 2013; 17: 225-235.
- 25) Fuks, D., C. Cossé, and J-M. Régimbeau. "Antibiotic therapy in acute calculous cholecystitis." *Journal of visceral surgery* 150.1 (2013): 3-8.
- 26) Kanafani, Zeina A., et al. "Antibiotic use in acute cholecystitis: practice patterns in the absence of evidence-based guidelines." *Journal of Infection* 51.2 (2005): 128-134.
- 27) Bedirli A, Sakrak O, Sözüer EM, Kerek M, Güler I. Factors effecting the complications in the natural history of acute cholecystitis. *Hepatogastroenterology.* 2001;48:1275-1278.
- 28) Menakuru SR, Kaman L, Behera A, Singh R, Katariya RN. Current management of gall bladder perforations. *ANZ J Surg.* 2004;74:843-846.
- 29) MA Umer, RS Date, KG Pursnani, JB Ward, MM Mughal. Evolving management of gallbladder perforation- a single centre experience without mortality. AUGIS, Liverpool, UK. September 2008.
- 30) RS Date. Experience and Management of Gallbladder Perforation. Invited presentation at North-West Chapter meeting of AUGIS, Liverpool, UK, April 2008.
- 31) Stefanidis, Dimitrios, Kenneth R. Sirinek, and Juliane Bingener. "Gallbladder perforation: risk factors and outcome." *Journal of Surgical Research* 131.2 (2006): 204-208.
- 32) Wu, James X., et al. "Can it wait until morning? A comparison of nighttime versus daytime cholecystectomy for acute cholecystitis." *The American Journal of Surgery* 208.6 (2014): 911-918.
- 33) Robert M. Zollinger Jr, E.Christopher Ellison. *Zollinger's atlas of surgical operations*, Ninth edition, The McGraw Hill Companies.inc, 2011, p198.

- 34) <http://emedicine.medscape.com/article/1582261-overview#a7> (poslednji pristup 24.4.2016).
- 35) Blum, Craig A., and David B. Adams. "Who did the first laparoscopic cholecystectomy?" *Journal of Minimal Access Surgery* 7.3 (2011): 165.
- 36) Auron PE, Webb AC, Rosenwasser LJ, Mucci SF, Rich A, Wolff SM, Dinarello CA (1984). "Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **81** (24): 7907–11.
- 37) Masters SL, Simon A, Aksentijevich I, Kastner DL (2009). "Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease (*)". *Annu. Rev. Immunol.* **27**: 621–68.
- 38) Su, Pei-Yuan, et al. "Increased IL-8 and IL-1 β in the bile of acute cholecystitis patients." *BioMedicine* 3.4 (2013): 181-185.
- 39) Abul K.Abbas, Andrew H.Lichtman. *Osnovna imunologija, funkcija i poremećaji imunskog sistema Vol 3*, Beograd 2008.
- 40) Liao W, Lin JX, Leonard WJ (Oct 2011). "IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation". *Current Opinion in Immunology* 23 (5): 598–604
- 41) Kuppler, Kevin, Daniel Jeong, and Jung W. Choi. "Non-infectious cholecystopathy secondary to high-dose IL-2 cancer immunotherapy." *Acta radiologica open* 4.10 (2015): 2058460115579458.
- 42) Carr C, Aykent S, Kimack NM, Levine AD (February 1991). "Disulfide assignments in recombinant mouse and human interleukin 4". *Biochemistry* **30** (6): 1515–23.
- 43) Hosoyama T, Aslam MI, Abraham J, Prajapati SI, Nishijo K, Michalek JE, Zarzabal LA, Nelson LD, Guttridge DC, Rubin BP, Keller C (May 2011). "IL-4R Drives Dedifferentiation, Mitogenesis, and Metastasis in Rhabdomyosarcoma". *Clin Cancer Res* 17 (9): 2757–2766.
- 44) Jon Aster, Vinay Kumar, Abul K. Abbas; Nelson Fausto (2009). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease* (8th ed.). Philadelphia: Saunders. p. 54.

- 45) Berguer, Ramon, et al. "Measurement of Intracellular γ -Interferon, Interleukin-4, and Interleukin-10 Levels in Patients Following Laparoscopic Cholecystectomy." *Journal of Investigative Surgery* 13.3 (2000): 161-167.
- 46) Tavernier J, Devos R, Cornelis S, Tuypens T, Van der Heyden J, Fiers W, Plaetinck G (September 1991). "A human high affinity interleukin-5 receptor (IL5R) is composed of an IL5-specific alpha chain and a beta chain shared with the receptor for GM-CSF". *Cell* **66** (6): 1175–84.
- 47) Takaki S, Murata Y, Kitamura T, Miyajima A, Tominaga A, Takatsu K (June 1993). "Reconstitution of the functional receptors for murine and human interleukin 5". *J. Exp. Med.* **177**(6):
- 48) Milburn MV, Hassell AM, Lambert MH, Jordan SR, Proudfoot AE, Graber P, Wells TN (May 1993). "A novel dimer configuration revealed by the crystal structure at 2.4 Å resolution of human interleukin-5". *Nature* **363** (6425): 172–6.
- 49) Shen HH, Ochkur SI, McGarry MP, Crosby JR, Hines EM, Borchers MT, Wang H, Biechelle TL, O'Neill KR, Ansay TL, Colbert DC, Cormier SA, Justice JP, Lee NA, Lee JJ (March 2003). "A causative relationship exists between eosinophils and the development of allergic pulmonary pathologies in the mouse". *J. Immunol.* **170** (6): 3296–305.
- 50) Di Biagio E, Sánchez-Borges M, Desenne JJ, Suárez-Chacón R, Somoza R, Acquatella G (Jul 1996). "Eosinophilia in Hodgkin's disease: a role for interleukin 5". *Int. Arch. Allergy Immunol.* **110**(3): 244–51.
- 51) Gadó K, Domján G, Hegyesi H, Falus A (2000). "Role of Interleukin-6 in the pathogenesis of multiple myeloma". *Cell Biol. Int.* 24 (4): 195–209.
- 52) Kristiansen OP, Mandrup-Poulsen T (December 2005). "Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent?". *Diabetes.* 54 Suppl 2:
- 53) Dubiński A, Zdrojewicz Z (April 2007). "[The role of interleukin-6 in development and progression of atherosclerosis]". *Pol. Merkur. Lekarski* 22 (130): 291–4.

- 54) Smith PC, Hobisch A, Lin DL, Culig Z, Keller ET (March 2001). "Interleukin-6 and prostate cancer progression". *Cytokine Growth Factor Rev.* 12 (1): 33–40.
- 55) Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T (1995). "Interleukin-6 family of cytokines and gp130". *Blood* 86 (4): 1243–54.
- 56) Madureira, Fernando Athayde Veloso, et al. "Inflammation in laparoendoscopic single-site surgery versus laparoscopic cholecystectomy." *Surgical innovation* 21.3 (2014): 263-268.
- 57) Louahed, Jamila, et al. Interleukin-9 upregulates mucus expression in the airways. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 2000, 22.6: 649-656.
- 58) Faulkner, H., Humphreys, N., Renauld, J. C., Van Snick, J., & Grecis, R. (1997). Interleukin-9 is involved in host protective immunity to intestinal nematode infection. *European journal of immunology*, 27(10), 2536-2540.
- 59) MOORE, Kevin W., et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual review of immunology*, 2001, 19.1: 683-765.
- 60) Ostrowski K, Schjerling P, Pedersen BK (Dec 2000). "Physical activity and plasma interleukin-6 in humans--effect of intensity of exercise". *European Journal of Applied Physiology* 83 (6): 512–5.
- 61) Ozenci V, Kouwenhoven M, Huang YM, Xiao B, Kivisäkk P, Fredrikson S, Link H (May 1999). "Multiple sclerosis: levels of interleukin-10-secreting blood mononuclear cells are low in untreated patients but augmented during interferon-beta-1b treatment". *Scandinavian Journal of Immunology* 49 (5): 554–61.
- 62) Samuli Aspinen, Mari Kinnunen, Jukka Harju, Petri Juvonen, Tuomas Selander, Anu Holopainen, Hannu Kokki, Kari Pulkki & Matti Eskelinen (2016): Inflammatory response to surgical trauma in patients with minilaparotomy cholecystectomy versus laparoscopic cholecystectomy: a randomised multicentre study, *Scandinavian Journal of Gastroenterology*.
- 63) Trinchieri I, Giorgio. Interleukin-12: a cytokine produced by antigen-presenting cells with immunoregulatory functions in the generation of T-helper cells type 1 and cytotoxic lymphocytes. *Blood*, 1994, 84.12: 4008-4027.

- 64) Wills Karp, Marsha, et al. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. *Science*, 1998, 282.5397: 2258-2261.
- 65) Leonardi CL, Kimball AB, Papp KA, Yeilding N, Guzzo C, Wang Y, Li S, Dooley LT, Gordon KB (May 2008). "Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1)". *Lancet* **371** (9625): 1665–74.
- 66) Nalbandian, A.; Crispin, J. C.; Tsokos, G. C. Interleukin-17 and systemic lupus erythematosus: current concepts. *Clinical & Experimental Immunology*, 2009, 157.2: 209-215.
- 67) Jones, Brandi C., Naomi J. Logsdon, and Mark R. Walter. "Structure of IL-22 bound to its high-affinity IL-22R1 chain." *Structure* 16.9 (2008): 1333-1344.
- 68) Haq, Z., et al. "Interleukin-6 (IL-6) and tumour necrosis factor-alpha in open and laparoscopic cholecystectomy." *Mymensingh medical journal: MMJ* 13.2 (2004): 153-156.
- 69) Shrive, A. K., Cheetham, G. M., Holden, D., Myles, D. A., Turnell, W. G., Volanakis, J. E., Pepys, M. B., Bloomer, A. C., and Greenhough, T. J. (1996) *Nat. Struct. Biol.* **3**, 346–354.
- 70) Kushner, I., Jiang, S. L., Zhang, D., Lozanski, G., and Samols, D. (1995) *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **762**, 102–107.
- 71) Black, Steven; Kushner, Irving; Samols, David. C-reactive protein. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279.47: 48487-48490.
- 72) Wevers, Kevin P., Henderik L. van Westreenen, and Gijsbert A. Patijn. "Laparoscopic cholecystectomy in acute cholecystitis: C-reactive protein level combined with age predicts conversion." *Surgical Laparoscopy Endoscopy & Percutaneous Techniques* 23.2 (2013): 163-166.

- 73) Devasagayam T, Tilak JC, Boloor KK, Sane Ketaki S, Ghaskadbi Saroj S, Lele RD (October 2004). "Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects". *Journal of Association of Physicians of India (JAPI)* **52**: 796.
- 74) Muller F (Oct 2000). "The nature and mechanism of superoxide production by the electron transport chain: Its relevance to aging". *Journal of the American Aging Association* **23** (4): 227–53.
- 75) Han D, Williams E, Cadenas E (Jan 2001). "Mitochondrial respiratory chain-dependent generation of superoxide anion and its release into the intermembrane space". *The Biochemical Journal* **353** (Pt 2): 411–6.
- 76) Azumi, Hiroshi, et al. Expression of NADH/NADPH oxidase p22phox in human coronary arteries. *Circulation*, 1999, 100.14: 1494-1498.
- 77) Heymes, Christophe, et al. Increased myocardial NADPH oxidase activity in human heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 2003, 41.12: 2164-2171.
- 78) Elchuri S, Oberley TD, Qi W, Eisenstein RS, Jackson Roberts L, Van Remmen H, Epstein CJ, Huang TT (Jan 2005). "CuZnSOD deficiency leads to persistent and widespread oxidative damage and hepatocarcinogenesis later in life". *Oncogene* **24** (3): 367–80.
- 79) Conwit RA (Dec 2006). "Preventing familial ALS: a clinical trial may be feasible but is an efficacy trial warranted?". *Journal of the Neurological Sciences* **251** (1-2): 1–2.
- 80) Pitocco, Dario, et al. "Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes." *The review of diabetic studies: RDS 7.1* (2010): 15.
- 81) J.S. Beckman, T.W. Beckman, J. Chen, P.A. Marshall, B.A. Freeman Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87 (1990), pp. 1620–1624.

- 82) J.P. Crow, J.S. Beckman The importance of superoxide in nitric oxide-dependent toxicity: evidence for peroxynitrite-mediated injury *Adv. Exp. Med. Biol.*, 387 (1996), pp. 147–161.
- 83) V.G. Kharitonov, A.R. Sundquist, V.S. Sharma Kinetics of nitric oxide autoxidation in aqueous solution *J. Biol. Chem.*, 269 (1994), pp. 5881–5883
- 84) X. Liu, M.S. Miller, M.S. Joshi, D.D. Thomas, J.R. Lancaster Jr. Accelerated reaction of nitric oxide with O₂ within the hydrophobic interior of biological membranes *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95 (1998), pp. 2175–2179.
- 85) H. Kappus A survey of chemicals inducing lipid peroxidation in biological systems *Chem. Phys. Lipids*, 45 (1987), pp. 105–115.
- 86) H. Rubbo, R. Radi, M. Trujillo, R. Telleri, B. Kalyanaraman, S. Barnes, M. Kirk, B.A. Freeman Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives *J. Biol. Chem.*, 269 (1994), pp. 26066–26075.
- 87) N. Hogg, B. Kalyanaraman, J. Joseph, A. Struck, S. Parthasarathy Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide. Potential role in atherogenesis *FEBS Lett.*, 334 (1993), pp. 170–174.
- 88) S. Moncada, R.M. Palmer, E.A. Higgs Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology, *Pharmacol. Rev.*, 43 (1991), pp. 109–142.
- 89) Y.J. Suzuki, H.J. Forman, A. Sevanian Oxidants as stimulators of signal transduction *Free Radic. Biol. Med.*, 22 (1997), pp. 269–285.
- 90) De Caterina, Raffaele, et al. "Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines." *Journal of Clinical Investigation* 96.1 (1995): 60.
- 91) H.B. Peng, P. Libby, J.K. Liao Induction and stabilization of I kappa B alpha by nitric oxide mediates inhibition of NF-kappa B *J. Biol. Chem.*, 270 (1995), pp. 14214–14219.

- 92) A.J. Gow, D. Duran, S. Malcolm, H. Ischiropoulos Effects of peroxynitrite-induced protein modifications on tyrosine phosphorylation and degradation *FEBS Lett.*, 385 (1996), pp. 63–66.
- 93) L.A. MacMillan-Crow, J.P. Crow, J.D. Kerby, J.S. Beckman, J.A. Thompson Nitration and inactivation of manganese superoxide dismutase in chronic rejection of human renal allografts *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93 (1996), pp. 11853–11858
- 94) Polat, C., et al. "The effect of different intraabdominal pressures on lipid peroxidation and protein oxidation status during laparoscopic cholecystectomy." *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques* 17.11 (2003): 1719-1722.
- 95) Grande, M., et al. "Systemic acute-phase response after laparoscopic and open cholecystectomy." *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques* 16.2 (2002): 313-316.
- 96) Zhou W, Levine BA, Olson MS. Platelet-activating factor: a mediator of pancreatic inflammation during cerulein hyperstimulation. *Am J Pathol* 1993;142:1504-1512.
- 97) Emanuelli G, Montrucchio G, Gaia E, Dughera L, Corvetti G, Gubetta L. Experimental acute pancreatitis induced by platelet activating factor in rabbits. *Am J Pathol* 1989;134:315-326.
- 98) Van der Liden MW, Huizinga TW, Stoeken D, Sturk A, Westendorp RG. Determination of tumour necrosis factor alpha and interleukin-10 production in a whole blood stimulation system: assesment of labortory error and individual variation. *J Immunol Methods* 1998; 218: 63-71.
- 99) Bhatia M, Brady M, Shokuhi S, Christmas S, Neoptolcmos JP, Slavin J. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *J Pathol* 2000; 190: 117-125.
- 100) Katial RK, Hershey J, Purohit-Seth T, Belisle JT, Brennan PJ, Spencer JS, Engler RJ. Cell-mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole-blood culture. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 339-345

- 101) Brivet FG, Emilie D, Galanaud P. Pro and antiinflammatory cytokines during acute severe pancreatitis: an early and sustained response, although unpredictable of death. Parisian Study Group on Acute Pancreatitis. *Grit Care Med* 1999;27:749-755.
- 102) Gay NJ, Keith FJ. Drosophila Toll and IL-1 receptor. *Nature* 1991;351:355-356.
- 103) Schietroma, M., et al. "Changes in the blood coagulation, fibrinolysis, and cytokine profile during laparoscopic and open cholecystectomy." *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques* 18.7 (2004): 1090-1096.
- 104) Lein W, Tromm A, Griga T, Fricke H, Folwaczny C, Hocke M, Eitner K, Marx M, Duerig N, Epplen JT. Interleukin-4 and interleukin-4 receptor gene polymorphisms in inflammatory bowel diseases. *Genes Immun* 2001;2:287-289.
- 105) Helmy, S. A. K., M. A. M. Wahby, and M. El-Nawaway. "The effect of anaesthesia and surgery on plasma cytokine production." *Anaesthesia* 54.8 (1999): 733-738.
- 106) Brune, Iris B., et al. "Downregulation of T helper type 1 immune response and altered pro-inflammatory and anti-inflammatory T cell cytokine balance following conventional but not laparoscopic surgery." *The American journal of surgery* 177.1 (1999): 55-60.
- 107) Yoshida, T., et al. "Hormone-cytokine response." *Surgical endoscopy* 11.9 (1997): 907-910.
- 108) Pappas-Gogos, George, et al. "Oxidative stress markers in laparoscopic versus open colectomy for cancer: a double-blind randomized study." *Surgical endoscopy* 27.7 (2013): 2357-2365.
- 109) Stipancic, Igor, et al. "Oxidative stress markers after laparoscopic and open cholecystectomy." *Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques* 15.4 (2005): 347-352.
- 110) Ni, Hong, Chang-Jiang Li, and Xi-Qing Xiang. "Effect of laparoscopic cholecystectomy on the inflammatory reaction, oxidative stress and cellular immune function." *Journal of Hainan Medical University* 22.2 (2016): 64-66.

Spisak skraćenica

ALT - Alanine transaminase
APC - Antigen-presenting cell
AST - Aspartate transaminase
BMI - Body mass index
CAPS - Cryoporin-associated periodic syndrome
CD - Cluster of differentiation
CNF – Ciliary neurotropic factor
COX - Cyclooxygenase
CRP – C reactive protein
DNK - Deoksiribonukleinska kiselina
ELISA - Enzyme-linked immunosorbent assay
EPR - electron paramagnetic resonance
ESR - Electron spin resonance
G-CSF - Granulocyte-colony stimulating factor
GTP - Guanosine-5'-triphosphate
HPLC - High-performance liquid chromatography
IAP – Intraabdominal pressure
IFN- Interferon
Ig - Immunoglobulin
IL - Interleukin
INR - International normalized ratio
LAP – Latency associated protein
LIF – Leucaemia inhibitory factor
LTPB – Latent TGF β binding protein
MHC - Major histocompatibility complex
NADPH - Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NK - Natural killer

NO - Nitrite Oxide

NOS - Nitric oxide synthases

NSAID – Non steroid anti-inflammatory drug

NT – Nitrotyrosine

PGE – Prostaglandin

PTT – Partial thromboplastine time

ROC – Receiver operative characteristics

TACE – TNF alpha converting enzyme

TGF - Transforming growth factor

Th - T helper

TNF- Tumor necrosis factor

Biografija autora

Mijatović Srđan rođen je 10.06.1966. godine, u Sarajevu, gde je pohađao osnovnu i srednju školu.

Medicinski fakultet univerziteta u Sarajevu upisao je 1984. godine, gde stiče diplomu doktora medicine 1990. godine, sa prosečnom ocenom 8.93. U toku studija objavio je više naučnih studentskih radova, i to na kongresima studenata medicine.

Obavezan lekarski staž je obavio u periodu 1990-1991 u Švajcarskoj, Kantonspital Bruderholz, u Bazelu.

Stručni ispit je položio 1991. godine, specijalističke studije iz opšte hirurgije upisao je 1992. godine. Od 1994.godine, zaposlen na Klinici za digestivnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije.

Zvanje specijaliste opšte hirurgije stekao je 1996 godine u Beogradu sa odličnom ocenom.

Magistarske studije iz hirurške anatomije je upisao 1994 godine, a 2006 godine stekao zvanje magistra medicinskih nauka sa odbranjenom tezom pod nazivom "Analiza udaljenih rezultata lečenja holidoholitijaze "T" drenažom i transduodenalnom sfinkteroplastikom".

Juna 2008. godine, na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, prijavljuje temu za izradu doktorske disertacije pod nazivom „Proinflamatorni i antiinflamatorni citokini kao pokazatelji operativne traume i stepena tkivnog ostećenja kodlaparoskopske i konvencionalne holecistektomije“, čiji je mentor prof.dr Branislav Stefanović, a komentor prof. dr Vladimir Trajković, koja je odobrena od strane naučnog nastavnog veća juna 2010. godine.

U junu 2015. godine, izabran je u zvanje kliničkog asistenta na katedri za opštu hirurgiju. Od tada učestvuje u nastavi za studente Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Uz obavljanje redovnih poslova na mestu odeljenskog lekara na Klinici za Urgentnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije.

Objavio je više radova u stranim časopisima kao i na domaćim i inostranim kongresima.

Član je više domaćih i internacionalnih udruženja među kojima su Evropsko udruženje za endoskopsku hirurgiju i druge interventne tehnike (EAES) , Evropsko udruženje za hepatopankreatičnubilijarnu hirurgiju (EHPBA).

Od juna 2016. godine, jedan je od osnivača Udruženja endoskopskih hirurga Srbije (UEHS) a sada je na funkciji generalnog sekretara udruženja.

Usavršavao se iz oblasti minimalno invazivne i robotske hirurgije od 2010 do 2012.

Rad i hirurške intervencije Robotic Teaching Program „Left robotic hemicolectomy, robotic cholecystectomy, right robotic hemicolectomy, D2gastric robotic resection, robotic Lower rectal resection”, Nuoro , San Francesco hospital, Sardinija, Italija 02-05, maj 2012. godine.

Usavršavanje iz oblasti mini invazivne hirurške tehnike „One port surgery”, Trento, Italy 08-18, april 2012. godine.

Predavač i operator na „4th International Course on Abdominal Wall defect, see one, do one, teach one”. Trento, Italija, 16-17 april 2012. godine.

2012. godine. Moderator na Internacionalnom kongresu mini invazivne hirurgije u Napulju. (22-24 mart) live surgery.

2011. godine. Usavršavanje iz oblasti mini-invazivne hirurške tehnike u abdominalnoj patologiji, bolnica San Camillo, Trento, Italija.

2010. godine. Usavršavanje iz oblasti mini-invazivne hirurške tehnike u rešavanju defekta abdominalnog zida, bolnica San Camillo, Trento, Italija

2010. godine. Usavršavanje iz oblasti transplantacione, viseralne i vaskularne hirurgije, Charite Klinik, Berlin, Nemačka.

Tečno govori engleski i nemački jezik a služi se i italijanskim jezikom.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Mijatović Žarko Srđan

Broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Proinflamatorni i antiinflamatorni citokini kao pokazatelji operativne traume i stepena tkivnog oštećenja kod laparoscopske i konvencionalne holecistektomije

-
-
- Rezultat sopstvenog istraživačkog rada
 - Da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova
 - Da su rezultati korektno navedeni i
 - Da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica

Potpis doktoranta

U Beogradu 27.03.2017.



Prilog 2.

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije
doktorskog rada**

Ime i prezime autora Srđan Mijatović

Broj upisa

Studijski program Doktorske studije

Naslov rada Proinflamatorni i antiinflamatorni citokini kao pokazatelji operativne trauma i stepena tkivnog oštećenja kod laparoskopske i konvencionalne holecistektomije

Mentor Prof.dr Branislav Stefanović

Potpisani Srđan Mijatović

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portal Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranta

U Beogradu, 27.03.2017.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Mijatović', is written over a horizontal line.

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Proinflamatorni i antiinflamatorni citokini kao pokazatelji operativne traume i stepena tkivnog oštećenja kod laparoscopske i konvencionalne hirurgije

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo-nekomercijalno
3. Autorstvo-nekomercijalno-bez prerade
4. Autorstvo-nekomercijalno-deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo- bez preradež
6. Autorstvo- deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista)

1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo - nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.

