

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Paulius
BOSAS

Imunologiniai atvirų ir laparoskopinių prostatos vėžio operacijų skirtumai

DAKTARO DISERTACIJA

Medicinos ir sveikatos mokslai,
Medicina (M 001)

VILNIUS 2022

Disertacija rengta 2017–2021 metais Vilniaus universitete.

Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba ir Nacionalinis vėžio institutas.

Mokslinis vadovas – prof. habil. dr. Feliksas Jankevičius (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001).

Gynimo taryba:

Pirmininkas – prof. dr. Dainius Characiejus (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001).

Nariai:

doc. dr. Audrius Ivanauskas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001),

prof. dr. Mindaugas Jievaltas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001),

dr. Marius Kinčius (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001),

doc. dr. Vilnis Lietuvietis (Rygos Stradinio universitetas (Latvija), medicinos ir sveikatos mokslai, medicina, M 001).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2022 m. kovo 25 d. 12 val. Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Didžiojoje auditorijoje. Adresas: M. K. Čiurlionio g. 21, Vilnius, Lietuva, tel. +370 5 236 5250; el. paštas regina.valenteliene@mf.vu.lt.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje ir VU interneto svetainėje adresu: <https://www.vu.lt/naujienos/ivykiu-kalendorius>

VILNIUS UNIVERSITY

Paulius
BOSAS

Immunological Differences between Open and Laparoscopic Radical Prostatectomies

DOCTORAL DISSERTATION

Medicine and Health Sciences,
Medicine (M 001)

VILNIUS 2022

This dissertation was written between 2017 and 2021 at Vilnius University. The research was supported by the Research Council of Lithuania and the National Cancer Institute.

Academic supervisor:

Prof. Habil. Dr. Feliksas Jankevičius (Vilnius University, Medicine and Health Sciences Medicine M 001).

This doctoral dissertation will be defended in a public meeting of the Dissertation Defence Panel:

Chairman – Prof. Dr. Dainius Characiejus (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine M 001).

Members:

Assoc. Prof. Dr. Audrius Ivanauskas (The Lithuanian University of Health Sciences, Medicine and Health Sciences, Medicine M 001);

Prof. Dr. Mindaugas Jievaltas (The Lithuanian University of Health Sciences, Medicine and Health Sciences, Medicine M 001);

Dr. Marius Kinčius (The Lithuanian University of Health Sciences, Medicine and Health Sciences, Medicine M 001);

Assoc. Prof. Dr. Vilnis Lietuviētis (Rīga Stradiņš University (Latvia), Medicine and Health Sciences, Medicine, M 001).

The dissertation shall be defended at a public/closed meeting of the Dissertation Defence Panel at 12 pm/ on 25 March 2022 in the Great Hall at the Medical Faculty of Vilnius University.

Address: M. K. Čiurlionio str. 21, Vilnius, Lithuania.

Phone No.: +37052365250; email: regina.valenteliene@mf.vu.lt

The text of this dissertation can be accessed through Vilnius University Library as well as on the website of Vilnius University:

www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

SANTRUMPOS

- ADT** – androgenų deprivacijos terapija,
AO – atviroji operacija (disertacijoje terminas vartojamas ne tik prostatektomijai, bet ir kitų organų atvirosioms operacijoms įvardyti),
ARP – atviroji radikaloji prostatektomija,
BCR – biocheminis atkrytis po radikalsios prostatektomijos, t. y. du nuoseklūs PSA koncentracijos padidėjimai daugiau kaip 0,2 ng/ml,
BPG – bendrosios praktikos gydytojas,
CRB – C reaktyvinis baltymas,
CTL – citotoksiniai limfocitai,
CVL – cirkuliuojančios vėžinės ląstelės,
DL – dvigubėjimo laikas,
DR – didelė rizika,
DRG – didelės rizikos grupė,
ECOG – Rytų jungtinės onkologijos grupės (angl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) paciento bendros būklės vertinimo skalė,
ePSA – PSA kitimo greitis (disertacijoje siūloma vartoti – PSA kitimo greičio rodiklis),
eVŽ – vėžio žymens kitimo greitis,
G-CSF – granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius (angl. *Granulocyte Colony-Stimulating Factor*),
HLA – žmogaus leukocitinis antigenas (tarptautinis žymėjimas) (angl. *Human Leukocyte Antigen*),
HLA-DR – žmogaus leukocitinio antigeno DR potipis (kartais atspindi mielomonocitinio kamieno aktyvaciją),
IL – interleukinas,
IPS – imuninės patikros slopikliai (angl. *Immune Checkpoint Inhibitors*),
IS – imuninė sistema,
ISL – imuninės sistemos ląstelės,
KRPV – kastracijai rezistentiškas prostatos vėžys,
LAK – limfokinais aktyvuoti kileriai,
LO – laparoskopija, laparoskopinė operacija (disertacijoje terminas vartojamas ne tik prostatektomijos operacijai įvardyti),
LRP – laparoskopinė radikaloji prostatektomija,
MDSC – mieloidinės kilmės supresinės ląstelės (disertacijoje vartojamas visuotinai paplitęs tarptautinis imunologinis terminas) (angl. *Myeloid Derived Suppressor Cells*),
MMP – matricos metaloproteinazė,
MPV – vidutinis trombocitų tūris; tarptautinis žymėjimas (angl. *Mean*

Platelet Volume),
MR – maža rizika,
MRG – mažos rizikos grupė,
N – sritiniai limfmazgiai (**N1** – sritiniuose limfmazgiuose rasta metastazių,
N0 – metastazių sritiniuose limfmazgiuose nerasta),
NE/LY – neutrofilų ir limfocitų santykis,
NK – natūralieji kileriai,
PL – pusinės eliminacijos laikas,
PLT – trombocitai; tarptautinis žymėjimas (angl. *Platelets*),
PLT/LY – trombocitų ir limfocitų santykis,
PSA – prostatos specifinis antigenas,
PSMA – prostatos specifinis membraninis antigenas,
PV – prostatos vėžys,
RDW – periferinio kraujo eritroidinių ląstelių pasiskirstymas pagal dydį; tarptautinis žymėjimas (angl. *Red Distribution Width*),
ROC kreivė – gavėjų veiklos charakteristikų kreivė, t. y. grafikas, rodantis klasifikatoriaus jautrumo ir specifiškumo sąryšį (angl. *Receiver Operating Characteristic*),
RP – radikaloji prostatektomija,
ST – spindulinė terapija,
Th – T limfocitai helperiai (1 ir 2 subpopuliacijos),
TNF – vėžio nekrozės faktorius; tarptautinis žymėjimas (angl. *Tumor Necrosis Factor*),
Treg – reguliuojantys T limfocitai,
VEGF – kraujagyslių endotelio augimo faktorius,
VŽ – vėžio žymuo.

Pastaba. Tarptautiniai visuotinai priimti žymėjimai į lietuvių kalbą nebuvo verčiami.

TURINYS

1. ĮVADAS	10
1.1. Temos aktualumas	10
1.2. Darbo tikslas	12
1.3. Darbo uždaviniai	12
1.4. Ginamieji teiginiai	12
1.5. Darbo naujumas	13
2. LITERATŪROS APŽVALGA	14
2.1. Operacijos poveikis organizmui	14
2.2. Uždegimas, nespecifinis reaktyvumas ir imunologinė adaptacija pooperaciniu laikotarpiu	16
2.2.1. Humoralinio imuniteto faktorių pokytis, veikiamas operacijos.	16
2.2.2. Ląstelinio imuniteto faktorių pokytis, veikiamas operacijos. Treg ląstelės	17
2.2.3. Mieloidinės kilmės supresinės ląstelės (angl. Mveloid Derived Supressor Cells; MDSC)	17
2.2.4. Natūralieji kileriai (NK ląstelės)	18
2.2.5. Citotoksiniai T limfocitai (CTL)	18
2.2.6. Granulocitai	19
2.2.7. NE/LY ir GR/LY	20
2.2.8. PLT/LY rodiklis	20
2.3. Prostatos vėžio imunogeniškumas, jo svarba pooperaciniu laikotarpiu	21
2.3.1. Laparoskopinių ir atvirųjų operacijų sukelti imunologiniai pokyčiai	22
2.3.2. Metastatinio PV dalinis pašalinimas (citoredukcinė terapija) ir imuniteto reakcija	23
2.4. Imuniteto išsaugojimo reikšmė atkryčiui valdyti	23
2.5. Apibendrinimas	26
3. TYRIMO METODAI	29
3.1. Tiriamoji grupė. Įtraukimo į studiją kriterijai	29
3.2. Operacijų atlikimo technika	32

3.2.1. Atviroji radikaloji prostatektomija	32
3.2.2. Laparoskopinė radikaloji prostatektomija	33
3.3. PSA nustatymas. ePSA konvertavimas. Hematologiniai ir citometriniai kraujo rodikliai.....	38
3.3.1. PSA nustatymas ir ECL technologija	38
3.3.2. Hematologinė analizė	38
3.3.3. ePSA konvertavimas	39
3.4. Periferinio kraujo imunofenotipavimas	42
3.5. Statistinė analizė.....	49
4. REZULTATAI	51
4.1. Pacientų skirstymas į rizikos grupes	51
4.2. Ligonių išgyvenamumo, nesant biocheminio atkryčio, analizė	51
4.3. Pooperaciniai PSA mažėjimo ypatumai	51
4.4. ePSA koncepcijos įvedimas į pooperacinės stebėsenos planą	52
4.5. ePSA panaudojimo praktinės galimybės. Tinklalapis ePSA apskaičiuoti	55
4.6. Kraujo imuninių ląstelių populiacijų sudėties pokyčiai kaip atsakas į naviko pašalinimą, lyginant tarpusavyje PV rizikos grupes.....	56
4.7. Kraujo imuninių ląstelių populiacijų sudėties pokyčiai kaip atsakas į naviko pašalinimą, lyginant ARP su LRP	57
4.8. B limfocitų subpopuliacijos įvertinimo pranašumai interpretuojant klasikinį neutrofilų limfocitų santykį (NLR). Laparoskopinės prostatektomijos galimybės.....	61
4.9. Koreliacinis ryšys tarp atskirų rodmenų.....	63
4.10. Imunofenotipavimo duomenys, gauti derinant rizikos grupes su BCR atkryčiu.....	65
4.11. Rodmenų prognostinės vertės analizė, derinant ePSA su imunofenotipavimo duomenimis.....	66
4.12. Grafinė pagrindinių rezultatų santrauka	68
5. DISKUSIJA.....	69
IŠVADOS.....	85
REKOMENDACIJOS	86
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	87
PRIEDAI	116
1 priedas. GYVENIMO APRAŠYMAS	116

2 priedas. Leidimas atlikti biomedicininį tyrimą.....	121
3 priedas. Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos leidimas.....	122
4 priedas. Informuoto asmens sutikimo forma	123
SANTRAUKA	131
PADĖKA.....	166
PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS	167
PATEIKTYS	168

1. ĮVADAS

1.1. Temos aktualumas

Prostatos vėžys (PV) – Lietuvoje dažniausiai diagnozuojama vyrų onkologinė liga. Šalyje kasmet vidutiniškai registruojama 3 180 naujų PV atvejų ir 537 mirtys nuo PV (vidurkis skaičiuotas remiantis 2011–2015 m. duomenimis) [1]. Sergamumo PV, ligotumo ir gydymo rezultatų efektyvumo rodikliai Lietuvoje šiuo metu reikalauja ypatingo dėmesio.

Per pastaruosius dvidešimt metų Baltijos šalyse pagerėjusi PV diagnostika netiesiogiai turėjo įtakos sergamumo ir mirtingumo rodikliams, tačiau padėtis išlieka gana sudėtinga. 2020 m. M. B. Culp ir bendraautorijų atliktoje studijoje Lietuva, Latvija ir Estija minimos kaip valstybės, kuriose mirštamumas nuo prostatos vėžio yra didžiausias pasaulyje [2]. Apskritai, PV gydymo rezultatai tiek Lietuvoje, tiek Vakarų valstybėse nėra geri. Pavyzdžiui, JAV, išanalizavus 800 000 naujų PV atvejų, bendrojoje vėžio statistikoje nustatyta akivaizdžiai didėjanti užleisto metastatinio PV dalis [3]. Daugėjant užleisto PV atvejų, auga mirtingumas, blogėja gydymo rezultatai.

Lietuvos integracija į ES suteikė medikams galimybę dalyvauti atliekant naujausius tarptautinius klinikinius tyrimus. Integracija lėmė ir nemažus iššūkius, skatinančius medikus patiems ieškoti inovatyvių diagnostikos ir gydymo metodų, kuriuos būtų galima vertinti Lietuvos įstaigose ir rekomenduoti diegti už Lietuvos ribų.

Šiame darbe siekiama išnagrinėti laparoskopinės radikalsios prostatektomijos (LRP) operacinio metodo taikymo ypatumus, atsižvelgiant į pooperacinės imuninės būklės išsaugojimą. Išsaugotas imuninės sistemos integralumas gali būti lemiamas vėlesniu pooperaciniu laikotarpiu. Beveik neabejojama, kad artimiausiu metu medikamentinė įvairių navikų terapija bus vis labiau orientuota į modernią sisteminę terapiją, t. y. taikinių terapiją ar imunoterapiją. Remiantis 2019 m. statistikos duomenimis, matyti, kad daugiausia dėmesio ir didžiausi finansiniai ištekliai pasaulyje skiriami būtent navikų imunoterapijos sričiai plėtoti (pavyzdžiui, imuninės patikros slopiklis *Keytruda* (*pembrolizumab*) yra antras pasaulyje dažniausiai parduodamas medikamentas, o *Opdivo* (*nivolumab*) – penktas [4]). Prostatos vėžiui gydyti patvirtinta terapija *in vitro* vakcina stimuliuotomis paciento dendritinėmis ląstelėmis (*Sipuleucel-T*). 2021 m. JAV patvirtinta *Keytruda* (*pembrolizumab*) – PD-1 (*programmed death-1*) imuninės patikros slopiklis (IPS). Atliekant PV imunoterapiją, vykdoma daugiau negu 30 klinikinių tyrimų, siekiant pašalinti mikroaplinkos sukeltą imunosupresiją. Dėl

imunosupresinės mikroaplinkos ir CTL sunkiau patenkant prie vėžio židinio, PV laikomas „šaltuoju“ naviku. Tumorą infiltruojantys reguliuojantys T limfocitai ir T limfocitai helperiai (Th) 17 slopina citotoksinius limfocitus (CTL) ir priešvėžinį imuninį atsaką. Gydytas vien IPS mažai efektyvus. Pavyzdžiui, kompiuterinės tomografijos tyrimų duomenimis, pembrolizumabas PSA ir PV progresavimą sumažino tik 5 proc. išplitusiu KRPV sergančių pacientų. Todėl IPS derinami su chemoterapija (docetakseliu), hormonoterapija (enzalutamidu), poli [adenozino difosfato ribozės] polimerazės inhibitoriais (olaparibu) [5]. Taip pat bandoma pašalinti visą prostatą su PV ir imunosupresine mikroaplinka, neoadjuvantiškai skiriant imunoterapiją. Pavyzdžiui, atliekamas klinikinis tyrimas nemetastazinį PV gydant planuojama išplėstine limfonodektomija, neoadjuvantiškai skiriant pembrolizumabą ir enzalutamidą (NCT03753243).

Operacinis gydymas sumažina navikinio audinio masę organizme, tačiau pasireiškia neigiama operacinio streso įtaka imunitetui ir homeostazei. Nemažai įrodymų, kad operacinė intervencija pati savaime gali skatinti priešnavikinio imuniteto slopinimą, pagreitinti pavienių vėžio ląstelių diseminaciją [6, 7]. Šiuo atžvilgiu minimali chirurginė invazija turi neabejotinų pranašumų.

Disertacijoje LRP operacinio PV gydymo metodo įtaka organizmo imuninei sistemai lyginama su atvirosios radikaliosios prostatektomijos (ARP) įtaka. Pooperaciniu laikotarpiu ieškota potencialių imuninės sistemos (IS) išsaugojimo požymių, kurie patvirtintų arba paneigtų hipotezę, kad mažiau invazinis operacinis gydymas sukelia organizme mažiau nepageidaujamų imuninių ląstelių kiekio pokyčių.

Operacinis PV vėžio gydymas – pripažintas, saugus, gerai ištirtas ir plačiai taikomas metodas (maždaug 50 proc. [8] visų ligonių industrinėse valstybėse gydomi RP). Švedijos urologai atliko tyrimą ir, 29 m. stebėję PV sergančius ligonius, nustatė, kad geresnė ligos prognozė yra pritaikius RP operacinį gydymą, o ne aktyvų stebėjimą [9].

Maksimaliai išsaugota IS leidžia organizmui kovoti su atkryčiu pooperaciniu laikotarpiu. Išsaugotos imuninio priešnavikinio atsako funkcijos gali padėti organizmui eliminuoti arba atitolinti atkrytį.

Radikalusis PV operacinis gydymas pradėtas taikyti dar 1905 m. [10], tačiau palyginti neseniai, tik 1997 m. [11], imtas naudoti ir laparoskopinis (LRP) metodas. Šio metodo pradininkas, tuo metu dar neturėjęs mokslinio laipsnio, dr. V. Schuessleris aprašė savo pirmąsias devynias LRP operacijas (pirmoji atlikta dar 1992 m. [12]) ir padarė išvadą, kad „metodas jokio pranašumo neturi“. Metodas populiarėjo gana lėtai. Pradžioje JAV urologai skeptiškai žiūrėjo į šią inovaciją. Europoje metodas plito šiek tiek greičiau,

tačiau ilgą laiką vis tiek nebuvo labai populiarus. Pavyzdžiui, 2006 m. Vokietijoje tik 50 chirurgų buvo įvaldę LRP, o tais pačiais metais operuotų ligonių skaičius siekė 5 800 [13]. Nuo pat šio metodo įdiegimo pradžios atsirado ne tik pasekėjų, bet ir skeptikų. Kai kurie iš jų iki šiol abejoja LRP metodo privalumais.

2009–2013 m. atlikta keletas didelės apimties randomizuotų tyrimų, kuriais lyginta ARP ir LRP technika. Išvadose teigiama, kad abi operacijos pasižymi panašia onkologine išėitimi, tačiau LRP yra labiau tausojanti organizmo funkcijas (minėtinas šlapimo nelaikymo dažnis, erektilinė funkcija) [14–16]. 2020 m. publikuoti maždaug 1 200 LRP operuotų pacientų duomenys, kurie atskleidė itin gerus onkologinius ir funkcinis gydymo rezultatus [17].

Skeptikų mažėja, tačiau kontroversišku teiginių gausa verčia trumpai sustoti prie šio klausimo. Akivaizdu, kad LRP metodas reikalauja gerokai didesnių įgūdžių ir ilgesnio laikotarpio, per kurį išmokstama LRP technikos. Šis metodas sudėtingesnis, procedūra užtrunka ilgiau, jos kaštai didesni. LRP metodo pranašumai ir trūkumai, nurodomi mokslinėje literatūroje, išsamiau aptariami teorinėje disertacijos dalyje, atsižvelgiant į metodo apologetų ir skeptikų argumentus (žr. 1 ir 2 lenteles).

1.2. Darbo tikslas

Įvertinti imuninės sistemos faktorius, galinčius turėti įtakos prostatos vėžio recidyvavimui, po atvirosios ir laparoskopinės prostatektomijos.

1.3. Darbo uždaviniai

1. Nustatyti ir palyginti imuninių ląstelių kiekio pokyčius ir jų dinamiką po atvirųjų ir laparoskopinių prostatos vėžio operacijų.
2. Įvertinti šių pokyčių sąsajas su prostatos vėžio klinikiniais rodikliais (Gleasono balas, stadija, rezekcinis kraštas, N+, PSA).
3. Nustatyti sąsajas tarp imuninės sistemos būklės ir biocheminio atkryčio.

1.4. Ginamieji teiginiai

1. Pacientų ląstelinis imunoprofilis, vertinamas prieš operaciją ir po jos, skiriasi lyginant pacientų, kuriems atlikta laparoskopinė operacija, ir

pacientų, kuriems atlikta atviroji radikaloji prostatektomija, grupes bei tarpusavyje lyginant prostatos vėžio rizikos grupes.

2. Remiantis priešoperacine imuninių ląstelių populiacijų sudėtimi ir PSA pokyčiu, galima prognozuoti biocheminį atkrytį po laparoskopinių ir atvirųjų radikaliųjų prostatektomijų.

1.5. Darbo naujumas

Tiriant pooperacinio PSA mažėjimą, laiko paklaidai pašalinti disertacijoje pirmą kartą panaudotas „vaisto eliminacijos algoritmas“, sujungęs pusinės eliminacijos laiko ir dvigubėjimo laiko formules. Sukurta internetinė svetainė, kurioje galima naudotis naująja formule.

ARP ir LRP operacijų metu taikyta inovatyvi anestezija ir pooperacinis nuskausminimas, kurie neslopina IS: totali intraveninė anestezija (TIVA) propofoliu, pooperacinis epidūrinis nuskausminimas ar vietinė subfascijinė nejautra, nenarkotiniai analgetikai, neskiriant opiatų.

Imuninių ląstelių populiacijų sudėtis prieš operaciją ir po jos lyginta tarp pacientų, kuriems atlikta LRP, ir pacientų, kuriems atlikta ARP, grupių ir tarpusavyje tarp PV rizikos grupių.

Nustatyti nauji imunologinių parametrų ir ePSA deriniai, kuriais, praėjus 3 mėn. po operacijos, galima prognozuoti būsimą biocheminį atkrytį (BCR), galintį įvykti vidutiniškai per 3 metus.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. Operacijos poveikis organizmui

Gydant onkologinius susirgimus, chirurginė invazija vertintina ne tik teigiamai, kaip smarkiai sumažinanti naviko masę. Ji turi įtakos įvairiapusiams imuninės sistemos persitvarkymams, kartu ir daugeliui papildomų patofiziologinių procesų (pavyzdžiui, ląstelių diseminacijai, audinių hipoksijai; suintensyvėja krešėjimas, išskiriami augimo faktoriai, skatinantys audinių gijimą, ir kt.). Beveik visi šie procesai gali paskatinti tolesnį vėžio plitimą, atkrytį ar metastazavimą. Kyla klausimas, ar minimali operacinė invazija gali turėti pranašumų, organizmui reaguojant į chirurginį stresą.

Įrodyta, kad imuninė sistema yra itin svarbi navikinių ląstelių patekimui į kraujo ir limfinės sistemos cirkuliaciją bei šių ląstelių išplitimui kontroliuoti [18]. Imuninė sistema taip pat gali kontroliuoti išplitusių ląstelių pakartotinį plitimą, specifiskai slopindama jų aktyvumą vietose, nutolusiose nuo pirminio židinio. Mokslinėje literatūroje diseminuotų neaktyvių ląstelių būklė įvardijama kaip „snaudžiančių ląstelių“ fenomenas (angl. *dormant cells*), kurį taip pat kontroliuoja imuninė sistema. Tai iliustruoja autopsinės medžiagos tyrimai, kai vyrams, mirusiems ne nuo onkologinių ligų, aptinkamas prostatos vėžys. Pavyzdžiui, pastebėta, jog daugiau negu trečdalis (!) 70–79 m. vyrų, mirusių ne nuo onkologinių priežasčių, turėjo nediagnozuotą prostatos vėžį [19]. Be to, 12 proc. šių vyrų prostatos vėžys buvo randamas išplitęs į limfmazgius, o 5 proc. ištirtųjų vėžys buvo išplitęs sistemiškai. Vis dėlto nėra aišku, kuris konkrečiai imuninės sistemos komponentas kontroliuoja prostatos vėžį ir neleidžia pasireikšti klinikinei ligos eigai.

Iki 2018 m. publikacijų apie nemetastatinį PV sergančių pacientų kraujyje randamas cirkuliuojančias vėžines ląsteles (CVL) fiksuota 44 [20], iš jų minėtini 11 straipsnių apie pradines pT1 ir pT2 prostatos vėžio stadijas, kurių metu nedidelei daliai pacientų nustatytos CVL. Radikaliosios prostatektomijos (RP) atžvilgiu dar aktualesnės publikacijos, kuriose teigiama, kad CVL atsiranda dėl chirurginės manipuliacijos arba netrukus po operacijos. Pavyzdžiui, 2017 m. H. Tsumura ir bendraautorai nustatė, jog CVL atsiranda dar operacijos metu (intraoperacinis CVL atsiradimo laiko momentas registruojamas įvedant brachiterapines adatas į prostatą), nors nei vienam ligoniui CVL nebuvo rasta prieš operaciją [21]. Agresyvaus (>pT3, Gleason >8) prostatos vėžio atveju daugiau negu 80 proc. operuotų ligonių

CVL nustatyta praėjus vos 2–5 mėn. po operacijos [22]. Minėtina, kad prostata kaip organas nesiskiria nuo kitų organų ar vėžio formų operacinės manipuliacijos sukeltos ląstelių diseminacijos atžvilgiu, nes CVL atsiradimas kraujyje buvo aptinkamas operuojant skrandį [23], plaučius [24], krūtį [25], kepenis [26], storąją žarną [27] ar storosios žarnos metastazes plaučiuose [28].

LRP operacijos pritaikymas smarkiai sumažino CVL pasklidimą organizme, palyginti su ARP [29]. Minėta studija atskleidžia, kad LRP (robotinis variantas) nepakeičia buvusio ikioperacinio CVL lygio. ARP duomenys rodo, kad ši operacija CVL skaičių kraujyje gerokai padidina. Panašūs rezultatai gauti laparoskopinį metodą taikant kitiems navikams šalinti. Palyginti su atviruoju metodu, CVL nustatyta mažiau laparoskopiskai operuojant stemplės [30] ir plaučių vėžį [31]. Ligonių grupės abiem atvejais nebuvo didelės, tačiau skirtumai statistiškai reikšmingi, o studijų, paneigiančių LO pranašumus, nepavyko rasti.

Pooperacinė uždegiminė reakcija glaudžiai susijusi su organizmo imunine sistema. Gyjant žaizdoms, susidarant naujoms kraujagyslėms, valantis infekciniams židiniams ir formuojantis koaguliaciniams pokyčiams dalyvauja tos pačios jungiamojo audinio ir hematologinės ląstelės. Neutrofilų ir monocitų migracija į chirurginės žaizdos plotą yra normali organizmo reakcija [32], tačiau, esant onkologinei ligai, ši migracija sudaro mikroaplinkos sąlygas, palankias navikinių ląstelių virsmui (iš ikinavikinių) ir jų proliferacijai [33]. Didelis kiekis mediatorių ir citokinų, kuriuos išskiria neutrofilai, monocitai ir makrofagai, skatina navikinių ląstelių gyvybingumą operacinio guolio paviršiuje bei suaktyvina angiogenezę [32, 34]. Nesergant onkologine liga, šių mediatorių (IL-1, IL-6, IL-8, MMP, VEGF, TNF) išsiskyrimas ir nespecifinis uždegimas, kurį jie inicijuoja, yra normalus fiziologinis reiškinys, padedantis žaizdai gyti ir išsivalyti, naujoms kraujagyslėms susidaryti. Tačiau už rezekcinio krašto ribų likusios ląstelės bei dėl chirurginės manipuliacijos operaciniame guolyje atsiradę naviko ląsteliniai elementai (pavienės ląstelės ar konglomeratai) turi puikias sąlygas išgyventi ir daugintis. Šiuos procesus stimuliuoja jau minėti mediatoriai. Tai gerai iliustruoja atvejai, kai ankstyva naviko metastazė atsiranda buvusio operacinio pjūvio arba troakaro įvedimo vietoje. Palyginti su AO, LO šioje situacijoje pranašumų neturi. Kiekviena žaizda yra potencialus navikinių ląstelių imigracijos taškas. Egzistuoja labai maža tikimybė (0,09–0,73 % [35]), kad tokia metastazė gali atsirasti ir atliekant LO (angl. *port-site metastasis*), troakaro įvedimo vietoje [36]. Nustatyta, kad minėtos metastazės dažnis priklauso nuo operuojančio LO chirurgo įgūdžių, o, įvaldžius operacinę techniką, šį dažnį galima sumažinti maždaug 7,7 karto

[37]. Vis dėlto akivaizdu, kad egzistuoja ir nuo chirurgo nepriklausantys biologiniai neutrofilų, makrofagų mediatorių bei citokinų faktoriai, kurie rodo, kad chirurginės intervencijos ar žaizdos gijimo vietoje (bet kurioje operacinio guolio vietoje) gali susidaryti palanki mikroaplinka prostatos vėžio recidyvui atsirasti. Minėtinas atvejis [38], iliustruojantis, kad, taikant androgenų deprivacinę terapiją (ADT) goserelino injekcijomis, poodinė metastazė išsivystė vaistų leidimo vietoje. Suintensyvėjęs krešėjimas papildomai sudaro palankią terpę naviko ląstelių diseminacijai, nes koaguliacijos faktoriais ir (arba) baltymais padengtos navikinės ląstelės gali prisitvirtinti prie endotelio sienelės ir išvengti imuninės sistemos atsako [39].

2.2. Uždegimas, nespecifinis reaktyvumas ir imunologinė adaptacija pooperaciniu laikotarpiu

Pastaruoju metu atsirado didelė imunoterapinių medikamentų – imuninės patikros slopiklių (anti-CTLA4, anti-PD1, anti-PDL1) – pasiūla pažengusiam vėžiui gydyti. Paašškėjo, kad, net esant pažengusiam vėžiui, imuninė sistema gali būti orientuota navikiniam procesui kontroliuoti. Kilo poreikis maksimaliai „taupyti“ imuninę sistemą, kuri gali būti smarkiai nuslopinta operacinio, spindulinio ir chemoterapinio gydymo metu.

Naviko sukeltos imunosupresijos studijų pradžia siejama su F. M. Burneto imunologinės priežiūros koncepcija, publikuota 1970 m. [40]. Be navikinės imunosupresijos, operacinė intervencija savo ruožtu sukelia papildomą IS komponentų disfunkciją. Nustatyta, jog operacinės invazijos (nebūtinai onkologinės ligos atveju) sukelta imunosupresinė būklė išsilaiko maždaug dvi savaites po operacijos [41, 42]. Imuniteto slopinimo pikas yra apytikriai trečią pooperacinio laikotarpio dieną [43].

2.2.1. Humoralinio imuniteto faktorių pokytis, veikiamas operacijos

Į cirkuliaciją patekę stresiniai hormonai patys savaime gali sukelti imunosupresiją. Kortizolio hipersekrecija ir padidėjusi rūgščiųjų imunosupresinių proteinų gamyba, esant operaciniam stresui, fiksuojama beveik visada [41] ir gali lemti Treg ląstelių disbalansą. Treg ląstelės vertintinos neigiamai kontroliuojant navikinį procesą ir bet koks jų sutrikimas ar stimuliavimas yra nepageidautini. Tačiau kortizolio koncentracijos padidėjimas yra vienodas tiek AO, tiek LO atveju.

Kita grupė humoralinio atsako veiksmų priskiriama nespecifinio

uždegimo mediatoriams, visų pirma, CRB ir interleukinams. IL-6 yra itin nepalankus onkologiniu požiūriu. Jis skatina navikinių ląstelių sklidimą, jų proliferaciją ir gyvybingumo palaikymą. Pooperaciniu laikotarpiu, esant chirurginiam stresui, būtent IL-6 padidėjimas sudaro pagrindinę citokinių audros sudedamąją dalį. D. Decker ir bendraautorai, atlikę tyrimą, nurodė, kad operacinio guolio vietoje nustatomas IL-6 padidėjimas gali viršyti kontrolinį lygį 30 kartų, o kraujyje šio citokino koncentracija padidėja apie 7,4 karto [44]. Taigi kraujyje nustatomas IL-6 pooperaciniu laikotarpiu ne visai atspindi realų patofiziologinių pokyčių operaciniame guolyje vaizdą.

2.2.2. Ląstelinio imuniteto faktorių pokytis, veikiamas operacijos. Treg ląstelės

Padidėjęs Treg ląstelių skaičius buvo aptinkamas kraujyje daugelio navikų atvejais. Tai buvo susiję su blogesne ligos prognoze [45–48].

Operacija ne tik onkologiniams ligoniams gali smarkiai padidinti Treg ląstelių skaičių ir sumažinti teigiamą poveikį IS darančių citotoksinių T (CTL) ir helperinių T (Th1 ir Th2) limfocitų skaičių. Šis disbalansas ankstyvuoją pooperaciniu laikotarpiu sunkina IS apsaugą nuo organizme pasklidusių navikinių ląstelių. Esant kitoms aplinkybėms, pavienės vėžinės ląstelės IS galėtų eliminuoti [41, 48–50].

Nėra tiksliai žinoma, kaip veikia T ląsteles reguliuojantys mechanizmai, tačiau, paveikus šias ląsteles imuninės patikros slopikliais ar vakcinomis, kartais pavyksta suvaldyti metastatinį vėžio plitimą [51].

2.2.3. Mieloidinės kilmės supresinės ląstelės (angl. Myeloid Derived Suppressor Cells; MDSC)

Nustatyta, jog pooperaciniu laikotarpiu randamas padidėjęs MDSC ląstelių skaičius yra susijęs su naviko atkryčiu ir bloga išgyvenamumo prognoze [52–54]. Pavyzdžiui, pastebėta, kad netrukus po torakotomijos, atliktos plaučių vėžio atveju, MDSC ląstelių (CD11b+CD33+HLA-DR-) skaičius smarkiai išauga ir nepalanki ligos eiga koreliuoja su šiuo rodikliu [55].

MDSC valdo navikinio proceso progresavimą įvairiais mechanizmais. Šios ląstelės gali skatinti angiogenezę, navikinių ląstelių prilipimą prie kraujagyslių sienelės ir jų invaziją [56]. Kai kurie preparatai, pavyzdžiui, fosfodiesterazės-5 inhibitoriai (sildenafilis ir tadalafilis) mažina suaktyvėjusią MDSC funkciją ir didina NK poveikį, eliminuojant naviko

recidyvą pooperaciniu laikotarpiu [57].

2.2.4. Natūralieji kileriai (NK ląstelės)

Chirurginė intervencija slopina NK ląsteles, kurių vaidmuo, kaip manoma, yra pašalinti naviką iš organizmo. Nustatyta, kad pooperaciniu laikotarpiu NK ląstelių citotoksiškumas ir jų gebėjimas išskirti interferoną gama (IFN γ) yra slopinamas [57, 58]. Manoma, kad tai vyksta dėl hormonų, prostaglandinų ir citokinų atpalaidavimo, kuris itin intensyvuose operuojant ir netrukus po operacijos [59, 60]. Chirurginis stresas smarkiai slopina NK ląsteles, kurios, esant kitoms sąlygoms, galėtų inicijuoti navikinių ląstelių apoptozę [61]. Chirurginio streso taip pat inicijuotas fibrino ir trombocitų susikaupimas aplink navikines ląsteles yra papildomas veiksnys, slopinantis NK ląstelių sukibimą su navikinėmis ląstelėmis ir mažinantis šių ląstelių citotoksiškumą [62]. Ne vien chirurginė intervencija, bet ir anestezija bei pooperacinis nuskausminimas gali ženkliai slopinti NK funkciją [63]. Tikėtina, jog LO, sumažinanti analgezijos poreikį pooperaciniu laikotarpiu, gali turėti tam tikrą privalumą organizmo IS.

2.2.5. Citotoksiniai T limfocitai (CTL)

Prostatos vėžys priklauso vadinamųjų „šaltųjų“ vėžių kategorijai, todėl CTL sunkiau patenka prie vėžio židinio. Dėl imunosupresinės PV mikroaplinkos CTL neaktyvuojami PV sunaikinti. Dendritinės ląstelės yra antigeną pateikiančios ląstelės, kurios svarbios CTL aktyvuoti prieš pateiktą PV antigeną. Taip aktyvuotos CTL gali sunaikinti PV, todėl dendritines ląsteles bandoma paveikti rekombinantiniu adenovirusu, turinčiu PSMA. Dendritinės ląstelės pateikia PSMA citotoksiniams T limfocitams ir taip juos skatina naikinti PV. Išbandomi ir bispecifiniai monokloniniai antikūnai, sujungiantys PV ląstelės paviršiaus specifinį antigeną su CTL koreceptoriumi ir taip aktyvuojantys citotoksinius T limfocitus PV sunaikinti. Taip pat atliekami klinikiniai tyrimai CTL suaktyvinti naudojant IPS kartu su androgenų deprivacine terapija – enzalutamidu, kuris sustiprina IPS poveikį ir suaktyvina CTL prieš prostatos antigenus [5].

Remiantis šiuolaikiniais imunologiniais naviko „atmetimo“ modeliais, tikimasi, kad būtent CTL, susikaupę navikiniame audinyje, turėtų atspindėti naviką kontroliuojančios IS funkcionalumą. Vienas iš svarbesnių žymenų CTL ląstelių aktyvacijoje yra CD69 ekspresija. Pastebėta, kad, atmetant

persodintą širdį, šių ląstelių skaičius atmetame alotransplantate ženkliai padidėja [64]. Atvirkščias vaizdas pastebimas augant PV. PV histologiniuose preparatuose gerai išnagrinėtas limfoidinių CD8+CD69+ ląstelių trūkumas [65]. Įdomu tai, kad tyrimo autoriai nustatė pakankamai gausius CD8+CD69+ aktyvuotų CTL telkinius sveikuose audiniuose ir net aplink PV darinį, bet vėžinio audinio viduje šių ląstelių beveik visai nebuvo rasta. Iš T limfocitų grupės dominavo CD4 ląstelės, labiau susijusios su helperių funkcija. Kita vertus, neseniai paskelbtoje studijoje [66] nustatyta, kad PV audinys ne visiškai užslopina imuninį atsaką ir ląstelių, surinktų iš naviko, pagrindu galima kurti adoptyvinės terapijos priemones. CTL, esančių cirkuliacijoje, skaičius taip pat ne visada atspindi šių efektorinių ląstelių susitelkimą navikiniame audinyje.

2.2.6. Granulocitai

Žmogaus kūne per parą pasigamina maždaug 120 milijardų granulocitų ir tiek pat jų migruoja į audinius bei suyra [192]. Esant infekcijai arba uždegimui, granulocitų gali greitai padaugėti dar apie 10 kartų. Neutrofilai sudaro apie 96 proc. visų granulocitų ir, patekę į audinius, jie per keletą minučių pasklinda pažeidimo vietoje, sekretuodami daugybę biologiškai aktyvių medžiagų. Gydant prostatą, svarbu tai, kad granulocitų paviršiuje yra daug androgenų receptorių [67], kurie stipriai absorbuoja skiriamus ADT medikamentus (pvz., enzalutamidą, darolutamidą ir kt.). Tai gali turėti įtakos ADT medikamentų efektyvumui, esant uždegiminei prostatos infiltracijai neutrofilais.

Minėtos kraujo ląstelės, kurių proliferacijos greitis didesnis už navikinių ląstelių proliferacijos greitį, o gyvavimo trukmė yra tik keletas valandų, yra pagrindinės organizmo ląstelės, lemiančios antimikrobinį aktyvumą. Būtent šių ląstelių skaičiaus sumažėjimas neretai yra indikacija atidėti ar visai stabdyti gydymą citostatikais. Deja, šios adhezivumu pasižyminčios ląstelės skatina naviko metastazavimą tiek *in vitro*, tiek ir *in vivo* [68, 69] Neutrofilai sulimpa su navikinėmis ląstelėmis, suformuoja konglomeratus ir taip skatina navikinių ląstelių išplitimą organizme [70, 71]. Kadangi chirurginė intervencija įjungia sisteminio uždegimo mechanizmus, neutrofilų ir navikinių ląstelių konglomeratui pasklisti sudaromos palankios sąlygos [72]. Esant operaciniam stresui, svarbus visas kompleksas neutrofilų funkcijos pakitimų: skatinama navikinių ląstelių adhezija, proliferacija, migracija ir įsiterpimas į audinius per kraujagyslių sienelę [73, 74]. Specifinį vaidmenį, įsiterpiant į audinius per kraujagysles, atlieka vadinamasis NET

mechanizmas (angl. *neutrophil extracellular traps*), kuriam veikiant neutrofilai ištirpina tarpląstelinę medžiagą [73]. Šis mechanizmas pasitarnauja kovojant su bakterine infekcija, tačiau jis gali sudaryti palankias sąlygas įvairiuose organuose tarpti metastazuojančioms ląstelėms. Tai buvo įrodyta tyrinėjant operacinės hipoksijos sąlygomis sukeltus neutrofilų pokyčius ir jų NET mechanizmo modifikaciją, kuri gali nesunkiai aktyvuoti neaktyvias mikrometastazes [75–77].

2.2.7. NE/LY ir GR/LY

Aptariamas santykis pastaruoju metu tyrinėjamas gana intensyviai. Nustatyta, kad navikinis procesas, esant pažengusiai stadijai, dažnai sukelia paraneoplastinę granulocitozę. Dažniausia šios naviko sukeltos granulocitozės priežastis – hematopoetinių faktorių, panašių į granulocitų kolonijas stimuliuojantį faktorių (G-CSF), išmetimas į kraują. Minėtina, kad, esant ankstyvosioms stadijoms, nedidelis šių faktorių išmetimas į periferinį kraują dažnai yra nežymus ir lieka nepastebėtas atliekant periferinio kraujo tyrimą. Tai lengviau nustatoma tiriant NE/LY santykį, nes kaulų čiulpuose G-CSF mediatoriai perskirsto hemopoezę: NE ir GR kiekį nedaug didina, o LY nežymiai sumažina. Taip minėtas santykis tampa jautresniu rodikliu.

2016 m. X. Yinas ir bendraautoriai apibendrinę 14 mokslinių darbų, kuriuose analizuotas PV, tiriant NE/LY santykio reikšmę ligos prognozei [78]. Autorių teigimu, pradinėse ligos stadijose NE/LY santykis nebuvo reikšmingas, tačiau nustatyta šio santykio sąsaja su bendruoju išgyvenamumu ir išgyvenamumu nesant ligos progresavimo. Pažengusioms PV stadijoms šie rodikliai buvo statistiškai reikšmingi ($p < 0,001$). Panašius rezultatus pateikia ir kiti tyrėjai [79, 80]. Įdomu tai, kad NE/LY santykis buvo nepriklausomas prognozės rodiklis, nesietas su Gleasono balu [79, 80].

2.2.8. PLT/LY rodiklis

Citometrinis trombocitų ir limfocitų (PLT/LY) santykis taip pat yra vienas iš svarbesnių uždegimo indikatorių. Šio santykio svarba onkologinių ligų prognozei palyginti neseniai tapo inovatyvaus tyrimo objektu. Tiek NE/LY, tiek ir PLT/LY pasirodė informatyvūs, kai leukograma buvo pradėta vertinti ne žmogaus (mikroskopuojant tepinėlių), bet itin didelio tikslumo lazeriniais hematologiniais citometrais. Citometrinis lazerinis analizatorius geba įvertinti daugiau kaip 10 000 leukocitų ir kelis milijonus trombocitų per

minutę, todėl padidėjęs tikslumas gerokai sumažino žmogiškąsias paklaidas.

2015 m. T. Langsenlehner ir bendraautoriai ištyrė 374 PV sergančių ligonių išorinio spindulinio gydymo rezultatus, atsižvelgdami į PLT/LY santykį [81]. Šio santykio reikšmė 190 buvo pasirinkta kaip skiriamoji riba tarp santykinai aukštų (blogesnė prognozė) ir žemų (geresnė prognozė) reikšmių. Išgyvenamumas, nesant metastazių, mirštamumas nuo vėžio ir bendrasis mirštamumas priklausė nuo PLT/LY santykio. Panašius rezultatus gavo ir kiti tyrėjai, naudodami PLT/LY įvairioms PV stadijoms ir gydymo metodams prognozuoti [82–84]. 2018 m. atlikta PLT/LY santykio, nustatyto gydant PV, metaanalizė, apimanti šešias studijas ir 1 324 PV atvejus, įrodė, kad kalbamasis santykis yra informatyvus prognostinis rodiklis, leidžiantis susieti nespecifinį organizmo reaktyvumą su ligos prognoze [85].

2.3. Prostatos vėžio imunogeniškumas, jo svarba pooperaciniu laikotarpiu

Prostatoje ir PV audinyje gausu antigenų, lemiančių šio organo imunogeniškumą. Tai: prostatos specifinis antigenas (PSA), prostatos specifinis membraninis antigenas (PSMA), prostatos rūgštinė fosfatazė (PAP), prostatos kamieninių ląstelių antigenas (PSCA), T imuninių ląstelių receptoriaus gama alternatyvaus skaitymo proteinas (TARP), laikino receptoriaus potencialo (trp)-p8 ir prostatos šeštas transmembraninis epitelio antigenas 1 (STEAP1). Dėl imunosupresinės mikroaplinkos ir nedidelio T limfocitų kiekio joje (nustatoma procentine infiltruojančių ląstelių išraiška) PV laikomas „šaltuoju“ naviku [5, 108].

PV – vienas iš piktybinių auglių, kurio atsiradimą ir plitimą organizme geba atpažinti imuninė sistema, t. y. ląstelės, jau esančios prostatos audinyje [109]. Tai, kad prostatos naviką gali atpažinti imuninė sistema, yra itin svarbu ligai pažengus ir išsivysčius kastracijai rezistentiškam prostatos vėžiui (KRPV). Esant KRPV, įprastai jau būna išnaudotos kitos gydymo galimybės: spindulinis gydymas, ADT. Pastebėta, kad androgenų receptoriai dalyvauja suaktyvindami atsaką į PD-1 ir PD-L1 inhibitorius, todėl, KRPV išsivysčius enzalutamidą vartojantiems pacientams, klinikiniame tyrime paskyrus pembrolizumabą, apie 20 proc. pacientų PSA sumažėjo <0,1 ng/ml. Pembrolizumabą paskyrus ADT nevartojantiems pacientams, teigiamas pokytis nustatytas tik 5 proc. [5, 128].

Šiuo metu atliekama daug klinikinių tyrimų, naudojant imunoterapiją ir derinant ją su kitais priešvėžiniais gydymo būdais. Gydymas IPS taikomas ir daugeliui kitų vėžio lokalizacijų gydyti imunoterapija: melanomai, inkstų,

plaučių, storosios žarnos vėžiui [110]. Pooperaciniu laikotarpiu išsivystant KRPV, naviko ląstelės įgyja vis didesnę atsparumą ADT, kontrolei reikalingi aktyvuoti citotoksiniai T limfocitai, kuriuos galima suaktyvinti užblokovus nepageidaujamus PD-1, PD-L1, PD-L2 ir CTLA-4 [111, 112]. PV vystosi ir progresuoja pakankamai lėtai, todėl teoriškai turėtų susidaryti neblogos sąlygos įgyti imuninį atsaką net ir ligoniams, kurių liga pažengusi. Ši situacija palanki priešnavikinėms vakcinoms naudoti. Viena iš jų (*Sipuleucel-T*) įtraukta į JAV patvirtintų medikamentų sąrašą. Tai autologinė vakcina, kurią sudaro ligoonio mononuklearinės ląstelės, surinktos iš periferinio kraujo leukoforezės būdu [113]. Šios ląstelės vėliau inkubuojamos su prostatos rūgštine fosfataze, kuri būdinga PV ir gausiai sintezuojama PV epitelio ląstelių. Taip suaktyvintos paciento ląstelės suleidžiamos jam atgal į periferinę kraujotaką. Remiantis III fazės klinikinio tyrimo IMPACT rezultatais, galima teigti, kad gydymas *Sipuleucel-T* vakcina pailgino KRPV sergančių ligoonių išgyvenamumą 4,2 mėn. ir sumažino mirtingumo riziką 22 proc. [114]. Kaip ir daugeliu kitų imunoterapijos atveju, ši vakcina gerokai efektyvesnė, jei ją pradedama naudoti ankstyvesnėse ligos stadijose [115, 116]. Deja, vis dėlto tai nėra tas rezultatas, kurio tikimasi iš imunoterapijos. Šiandien platesnį šios vakcinos įdiegimą riboja ypač dideli gydymo kaštai ir žemas efektyvumas [117].

2.3.1. Laparoskopinių ir atvirųjų operacijų sukelti imunologiniai pokyčiai

Atlikta keletas studijų, siekiant palyginti LO ir AO sukeltus imunologinius pokyčius [118–124]. Pastebėta, kad minimaliai invazinė operacija sukelia organizme mažesnių nepageidaujamų virsmų: geriau išsaugoma neutrofilų baktericidinė funkcija, limfocitų subpopuliacijos ir ląstelinio imuniteto funkcijos. Dalis tyrėjų [118, 125, 126] apibendrina, kad visavertiškesnis priešinfekcinis ir priešnavikinis imunitetas išlieka atlikus LO nei atlikus AO. Tai turėtų lemti geresnius atokiuosius onkologinių ligų išgyvenamumo rezultatus. Šiuos teiginius patvirtina ir A. M. Lacy kartu su bendraautoriais [127] atlikto tyrimo duomenys. Nustatyta, kad, nemetastatinį storosios žarnos vėžį gydant laparoskopiskai, gydymo rezultatai buvo geresni. Duomenų apie PV imunologinius pokyčius, atliekant LRP ir ARP, nepavyko rasti.

2.3.2. Metastatinio PV dalinis pašalinimas (citoredukcinė terapija) ir imuniteto reakcija

Mokslinės literatūros analizė pasitelkta siekiant išsiaiškinti, kaip imuninė sistema reaguoja operuojant metastatinį vėžį, t. y. neturint galimybės visiškai eliminuoti piktybinio darinio ir pašalinant tik jo dalį. Toks imuninio atsako persitvarkymas operuojant oligometastatinį PV suteikia papildomos informacijos apie imuninės sistemos sutrikimus ir aktyvumą pooperaciniu laikotarpiu.

Galima teigti, kad metastatinio PV dalinis pašalinimas – kontroversiška PV gydymo taktika. Apskritai, kyla klausimas, ar IS gali suvaldyti likutinį PV, atlikus dalinį jo pašalinimą, t. y. pasitelkus citoredukcinę chirurgiją.

Koncepcija pradėta plėtoti 1995 m. [298]. 2019 m. B. E. Yuhas ir bendraautorai konstatavo, kad, atliekant I fazės klinikinius tyrimus, operuojant oligometastatinį prostatos vėžį (OMPV), pasiekta neblogų rezultatų: a) visiems, išskyrus vieną ligonį, sumažėjo PSA; b) 67,9 proc. operuotų ligonių PSA nukrito žemiau 0,2 ng/ml [129]. Vienam ligoniui operacinis gydymas greičiausiai išprovokavo ligos progresavimą, vienas mirė nuo operacinių komplikacijų ir dar vienam laikinai prireikė hemodializės. Šiuo metu šis klinikinis tyrimas tęsiamas – ligoniai įtraukti į klinikinių tyrimų II ir III fazes [130]. Tyrimo (NCT03456843) pabaiga ir paskelbti rezultatus numatyta 2022 metais.

Organizmo imuninė reakcija, operuojant OMPV, tikėtina, turi lemiamą reikšmę tolesnei ligos eigai [131]. Ar imunitetą tausojanti LRP galėtų potencijuoti šį atsaką, lieka neaišku.

2.4. Imuniteto išsaugojimo reikšmė atkryčiui valdyti

Naviko chirurginis pašalinimas yra PV eliminavimo iš organizmo dalis. Procedūros metu smarkiai sumažinamas piktybinių ląstelių, galinčių metastazuoti, skaičius, tačiau yra žinoma, kad chirurginė intervencija gali paskatinti metastazių formavimąsi. Šis fenomenas aiškinamas per keletą skirtingų mechanizmų: a) operacijos metu, manipuliuojant naviku, piktybinės ląstelės lengviau pasklinda po organizmą; b) operacija paskatina angiogenezę; c) operacija skatina koaguliaciją, todėl ląstelių konglomeratai gali įsitvirtinti kapiliarų tinkle; d) operacijos metu stimuliuojamas uždegimo, citokinų ir augimo faktorių išskyrimas; e) iš karto po operacijos laikinai sutrikdomas imuninės sistemos (ypač ląstelinio imuniteto) atsakas, po operacijos dalyvaujantis eliminuojant pasklidusias vėžines ląsteles [132].

Mokslinėje literatūroje randame svarstymų, ar operacinis stresas yra pakankamai didelis sukrėtimas organizmui, kad galėtų slopinti IS. Atliekant tyrimus su pelių navikų modeliais, gauta įrodymų, kad operacinis stresas smarkiai nuslopina IS ir ji nebegali eliminuoti naviko net po intensyvios stimuliacijos [133]. Stimuliuojant IS pelėms, suleidus limfokinais aktyvuotų kilerių (LAK) ir IL-2, pavykdavo eliminuoti jau augantį naviką, tačiau, 4 dienų laikotarpiu po laparotomijos taikant tą patį gydymą, jokio priešnavikinio poveikio nepavykdavo pasiekti. Nustatyta, kad augimo faktoriai, išsiskiriantys po laparotomijos, kuriuos organizmas naudoja žaizdoms gydyti, gali smarkiai blokuoti priešnavikinį IS aktyvumą.

Naviko augimo skatinimas, kurį sukelia chirurginė intervencija, dalies tyrėjų siejamas su NK ląstelių funkcijos nuslopinimu [134, 135]. AO sukelia didesnę imunosupresiją, palyginti su ta, kuri išsivysto operuojant laparoskopiskai [136]. Chirurginio metodo pasirinkimas daro ne itin reikšmingą įtaką limfocitų skaičiaus ar limfocitų subpopuliacijų kiekio pokyčiams, tačiau laparoskopija sukelia daug mažesnę Th1 ir Th2 ląstelių santykio kitimą ankstyvuojant pooperaciniu laikotarpiu (pirmą dieną po operacijos) [136]. AO nepalankiai veikia monocitus: HLA-DR antigenų ekspresija ir citotoksinis aktyvumas mažėja, išauga alfa-TNF ir superoksido anijonų gamyba. LO tokių pokyčių beveik nesukelia.

Dėl makrofagų funkcijos pokyčių, kuriuos sukelia LO ir AO, yra tam tikrų nesutarimų. Dauguma tyrėjų teigia, kad dėl poveikio makrofagams AO sukelia nepageidaujamą augimo faktorių išskyrimą ir citokinų audrą. Kaip CO₂ sukeltas pneumoperitoneumas (PnP) paveikia makrofagus, iki šiol diskutuojama. Nors laboratoriniams gyvūnams LO padidina makrofagų aktyvumą, tačiau ne visi eksperimentai tai patvirtino. Yra studijų, kuriose nustatyta, jog CO₂ nesukelia pilvaplėvės makrofagų aktyvacijos. Dėl NK ląstelių pokyčių LO ir AO metu taip pat nėra vienos nuomonės. Dauguma tyrėjų pritaria, kad CRB ir IL-6 išskyrimas AO metu yra didesnis negu LO atveju [137], todėl, siekiant išvengti CRB ir IL-6 pooperacinio padidėjimo, siūloma rinktis LO.

Minėtina, kad, taikant LO, atlikta nemažai bandymų su gyvūnais. Palyginti su AO rezultatais, taikant LO, atokieji gyvūnų operacinio navikų gydymo rezultatai buvo geresni. Vis dėlto akivaizdžių įrodymų, kad tai galioja ir operuojant žmonių piktybinius auglius, nėra. Keletas studijų, įskaitant ir darbus, kuriuose analizuojamas PV gydymas, nurodo panašius AO ir LO atokiuosius onkologinio gydymo rezultatus.

Ankstyvuojant pooperaciniu laikotarpiu gali būti taikoma priešnavikinė imunoterapija, ypač, jei IS gerai išsaugota, kaip LO metu. Taigi minimaliai invazyvi chirurgija gali turėti daugiau privalumų negu mažesnis skausmas,

greitesnis grįžimas į darbą ar trumpesnė hospitalizacija.

Mokslinėje literatūroje nepavyko rasti duomenų, ar imuninės sistemos išsaugojimas minimizuojant PV operacinę intervenciją gali turėti lemiamos reikšmės atkryčiui ir (ar) imuninei sistemai. Netiesioginiai tyrimai suponuoja mintį, kad minimaliai invazinė PV chirurgija turi tam tikrų pranašumų. Atliekant LRP: a) mažiau navikinių ląstelių išmetama į cirkuliaciją; b) operacinio guolio vietoje ir kraujyje mažiau susiformuoja uždegimą, angiogenezę ir ląstelių proliferaciją skatinančių citokinų (IL-6, IL8, TNF ir kt.); c) mažiau stimuliuojama hiperkoaguliacija ir pasklidusių naviko ląstelių prilipimas prie kraujagyslių endotelio (kontroliuoja uždegimo citokinus, keičia endotelio adhezyvines savybes, gali eliminuoti cirkuliuojančias PV navikines ląsteles). Imuninė sistema pajėgi ne tik suvaldyti ląstelių diseminaciją bei adhezivumą, bet ir paveikti jau proliferuojančias ląsteles. Tai ypač akivaizdu, kai histologinėje medžiagoje nustatoma infiltracija specifinėmis naviką kontroliuojančiomis imuninio atsako ląstelėmis, pvz., NK, CTL ir kt.

Tyrimai su laboratoriniais gyvūnais parodė, jog LO panaudojimas geriau išsaugo imuninio atsako galimybes pooperaciniu laikotarpiu ir sąlygoja mažesnę tikimybę išsivystyti komplikacijoms pooperaciniu laikotarpiu: laboratorinių gyvūnų modeliuose sumažėja infekcinės komplikacijos, lokalaus atkryčio ir metastazavimo tikimybė [138]. Vis dėlto praktikoje dažnai susiduriama su problema, kai imunoterapinis gydymas (pvz., vakcina, pembrolizumabu) pradedamas naudoti gana vėlai, t. y. tada, kai imuninė sistema jau išsekinta po chemoterapijos, spindulinio gydymo, ADT ir (ar) operacinio gydymo. Siekiama paveikti kraujyje cirkuliuojančių ir PV mikroaplinkoje esančių imuninių ląstelių kiekį ir sudėtį ir taip pagerinti operacinio PV gydymo rezultatus (2021 m. vis dar buvo vykdomi registruoti klinikiniai tyrimai NCT03753243, NCT03821246, NCT01804712 prieš RP skiriant pembrolizumabą, atezolizumabą su tocilizumabu, rituksimabą).

Idėja rekonstruoti operacijos metu nuslopintą imunitetą nėra visai nauja [135]. Svarstoma ir galimybė pasinaudoti švelnesne LO sukelta IS disfunkcija. Nauja tai, kad imuninės sistemos rekonstravimo galimybių ratas pastaruoju metu sparčiai plečiasi. Taigi operacinis IS tausojimas gali būti itin reikšmingas imunoterapijos schemose. Pavyzdžiui, priešoperaciniu laikotarpiu paskyrus imunoterapinį preparatą, PV operuoti ne atviruoju, o IS tausojančiu laparoskopiniu būdu, taip darant mažesnę įtaką šio preparato priešnavikiniam poveikiui.

Klinikiniai tyrimai, susiję su prostatektomija ir priešnavikinio imuniteto atkūrimu:

1. Klinikinis tyrimas, NCT03753243. Neoadjuvantinė (14–16 sav.) imuninės patikros slopiklio ir antiandrogeno terapija (*pembrolizumab* (*Keytruda*) ir *enzalutamide* (*Xtandi*)). Tiriamas didelės rizikos nemetastazavęs prostatos vėžys, nustatytas ikioperaciniu laikotarpiu. Fazė – II. Rėmėjas – *Merck Co.* Numatoma tyrimo pabaiga – 2023 m. Darbo hipotezė – antiandrogenai sensibilizuoja imunines ir navikines ląsteles PD-1 inhibitoriui ir abiejų preparatų kombinacija veikia efektyviau [139].

2. Klinikinis tyrimas, NCT03315871. Atsiradus biocheminiam atkryčiui, pradedamas intensyvus gydymas PROSTVAC, CV301 ir MSB0011359C vakcinomis. Gydomo tikslas – stimuliuoti imunitetą ir atitolinti klinikinį ligos progresavimą (įvertinamą pagal magnetinio rezonanso vaizdinimo duomenis). Fazė – II. Rėmėjas – *National Cancer Institute*, JAV. Numatoma tyrimo pabaiga – 2023 m. Darbo hipotezė – vakcinos sustiprina ląstelinį imuninį atsaką, todėl recidyvas yra kontroliuojamas [140].

2.5. Apibendrinimas

1. Abu operaciniai PV gydymo metodai – laparoskopinė ir atviroji RP – lemia panašius gydymo rezultatus.

2. PV operacinio gydymo sukeltas stresas veikia organizmo ir naviko sąveikos homeostazę: a) laikinai smarkiai silpnėja priešnavikinis imunitetas; b) keičiasi koaguliacinis ir fibrinolizinis fonas; c) silpnėja priešinfekcinis imunitetas; d) chirurginių manipuliacijų metu patekusios į cirkuliaciją PV ląstelės gali lengviau ekstravazuoti, įsitvirtinti kraujagyslių tinkle ir proliferuoti dėl stresinių hormonų, uždegimo faktorių atpalaidavimo ir dėl suintensyvėjusio žaizdų gijimo. LRP turi pranašumą prieš ARP, nes mažiau invazinė operacija sukelia mažesnių patofiziologinių persitvarkymų pooperaciniu laikotarpiu: lemia mažesnius koaguliacinius sutrikimus, mažiau PV ląstelių patenka į cirkuliaciją, labiau išsaugomas priešnavikinis imunitetas.

3. Šiuo metu pasaulyje didėjantį LRP/RALP populiarumą lemia tai, kad LRP yra mažiau invazinė, trumpėja hospitalizacijos laikas, pacientas greičiau grįžta į darbą.

LRP galimi pranašumai pateikiami 1 lentelėje.

1 lentelė. LRP pranašumai: argumentai už ir prieš

LRP apologetų deklaruojami pranašumai	Literatūra	LRP skeptikų požiūris	Literatūra
Operuojant LRP (ypač atliekant robotiniu būdu) būna mažiau teigiamų rezekcinių kraštų.	141	Kiti autoriai nurodo maždaug vienodus arba net priešingus rezultatus.	142
Geresnė operacinio lauko vizualizacija leidžia tiksliau atlikti prostatos viršūnės disekciją ir išsaugoti neurovaskulinį pluoštą.	143	Pooperaciniu laikotarpiu atliekant gyvenimo kokybės analizę nepavyko įrodyti, jog LRP geriau išsaugo lytinį pajėgumą ar šlapimo sulaikymą.	144, 145
LRP, skirtingai negu ARP, nepažidina į kraują patenkančių cirkuliuojančių PV ląstelių skaičiaus operacinės procedūros metu.	29	Nekvestionuojama. Tačiau yra komentarų, kad autoriai patys neatliko ARP, bet lygino savo LRP (robotinis variantas) metodu su kitų autorių gautais ARP istoriniais duomenimis.	146
Minimaliai invazinė LO keletu kitų onkologinių operacijų metu irgi sąlygojo mažesnį vėžinių ląstelių išmetimą į kraujo cirkuliaciją (pvz, stemplės, plaučių LO).	30, 31	Nekvestionuojama. Tačiau šiose studijose abiejose grupėse buvo tirta palyginti nedaug ligočių.	146
LRP metu ligois netenka mažiau kraujo. LRP metu kraujo perpilama rečiau ir mažiau.	142, 147, 143	Tai nėra galutinai įrodyta, literatūroje kartais, lyginant ARP ir LRP, minimi panašūs kraujo perpylimo atvejų skaičiai.	148
Perpylus alogeninio kraujo, RP onkologiniai gydymo rezultatai blogesni (pvz., metaanalizė – 10 publikacijų, 26698 ligočiai). Netiesioginis LRP pranašumas, nes mažiau transfuzijų.	150	Kai kurios publikacijos to nepatvirtina, be to autologinis kraujas kai kuriais atvejais gali būti gera alternatyva alogeniniam kraujui.	149
Vaizdo padidinimas ir kameros naudojimas pagerina vizualizaciją.	143	Atvirosios operacijos metu irgi galima pritaikyti optinį padidinimą.	148
Krešėjimo sistemos aktyvacija ir hiperkoaguliacinių komplikacijų dažnis yra mažesnis taikant LRP.	151, 153	Heparino profilaktikos dažnis operavus vienu ar kitu būdu nesiskiria. Po LRP hiperkoaguliacinė būklė vis tiek išsilaiko apie 28 dienas.	152
Nesant pilvo sienos pjūvio sutrumpėja pooperacinio skausmo periodas ir galima greičiau sugrįžti į normalų gyvenimo ritmą.	154	Pooperacinio skausmo intensyvumas ir trukmė skiriasi labai nedaug, todėl, net ir atlikus pilvo sienos inciziją, ligois greitai grįžta į normalų gyvenimo ritmą.	155
Sandaresnė pūslės ir šlaplės anastomozė, todėl Foley kateterį galima ištraukti anksčiau.	148	Atlikus 17 straipsnių metaanalizę rastas tik labai nedidelis LRP (robotinis variantas) pranašumas – anastomozės sandarumas, rizikos santykis HR-0,76.	143
Vėlyvų (24 mėn.) uretrovezikalinės anastomozės striktūrų operuojant LRP (robotinis variantas) pasitaiko 2,2 karto rečiau negu ARP atveju.	144	Kvestionavimo šiai 2019 m. publikacijai kol kas nerasta.	----
Hospitalizacijos trukmė maždaug 3 kartus trumpesnė: LPR = 1,4 dienos, AP = 4,4 dienos.	155	Šio teiginio kvestionavimo rasti nepavyko.	----
LRP mažiau reikia analgetikų pooperaciniu periodu.	153	Šio teiginio kvestionavimo rasti nepavyko.	----

*Dalis autorių alogeninio kraujo perpylimus sieja su padidėjusia biocheminio atkryčio rizika [91].

2 lentelė. LRP trūkumai: argumentai už ir prieš

LRP skeptikų deklaruojami ARP pranašumai	Literatūra	LRP apologetų požiūris	Literatūra
Patogiau išvengti rezekcinių kraštų; ARP teigiamos ribos pT2 pacientams pasitaiko tik 7,3–7,4 proc. atvejų (ARP pranašumo požiūris vyravęs maždaug iki 2009 metų).	156*, 157*	Teigiamų ribų dažnis, randamas operuojant pT2 pacientus LRP metodu, statistiškai nesiskiria: 5,4 - 11,0 proc.	158*, 159*, 160*, 17*
Esant ekstrakapsuliniam išplitimui patogiau išvengti rezekcinių kraštų. ARP teigiamos ribos pT3 pacientams nustatomos 29,6–33,2 proc. atvejų (ARP pranašumo požiūris vyravęs maždaug iki 2009 metų).	157*, 148*	Didelė pateikiamų rezultatų įvairovė susijusi su LRP operacijos įvaidymu. Teigiamų ribų dažnis po LRP kartais nurodomas ir mažesnis už ARP (26,1–44,3 %).	161*, 162*, 163*, 17*
LRP atliekantis chirurgas neturi galimybės subtiliai apčiuopti operacinio lauko pirštais – tai didina teigiamų rezekcinių kraštų galimybę (chirurgo taktilinės galimybės mažesnės).	148	Neįrodyta, kad teigiamų naviko ribų dažnis atliekant ARP būtų mažesnis, jis maždaug vienodas.	158*, 159*, 160*, 161*, 162*, 163*
Mobilizuojant neurovaskulinį pluoštelį elektrokauteriu, lengviau pažeidžiami nervai ir kraujagyslės. Erektilinė funkcija nukentčia dažniau.	164,148	Lytinio pajėgumo išsaugojimo rezultatai pooperaciniu periodu LRP ir ARP atvejais yra panašūs. Dalis autorių nurodo, kad jie LRP (robotinė modifikacija) atveju yra net geresni negu po ARP.	165, 11, 166, 167, 17
Komplikacijų, susijusių su operacinės LRP technikos subtilybėmis, būna daugiau negu operuojant ARP metodu (pooperacinių išvaržos, storosios žarnos pažeidimai ir kt.).	168, 164, 169	Komplikacijų skaičius priklauso nuo chirurgo patirties, transperitoninio ar ekstraperitoninio operacijos metodo. LRP metu chirurgų komplikacijų dažnis būna net mažesnis už ARP (pvz., limfocelės supuracija).	170, 162
Anglies dioksido dujos, naudojamos LRP metu, gali sukelti embolines komplikacijas ir hipoksiją.	172	Embolija CO ₂ , atliekant LRP, yra itin reta (0,001 %). Hipoksija – valdomas reiškinys, kuris pasitaiko ne vien tik atliekant LRP.	171, 173
Šlapimo nelaikymo dažnis, praėjus metams po ARP, yra nedaug mažesnis negu po LRP.	174	Nepastebėta jokių skirtumų lyginant abu metodus.	156, 175
Ilgai užtrunka įsisavinant LRP techniką.	148,176	LRP technika įsisavinama lėčiau, bet padedant patyrusiam chirurgui pakankamai greitai.	11,17
Nors onkologiniai rezultatai panašūs, tačiau pooperacinė ST po LRP atliekama 3 kartus dažniau nei po ARP.	154	Daug operuojantys LRP chirurgai rečiau palieka teigiamus rezekcinius kraštus, todėl ST dažnis nesiskiria nuo ARP.	155
Ilgesnė operacijos trukmė ir didesnė operacijos kaštai (JK įvertinta ARP kaina £4614, o LPR siekia £5257).	148	Šis teiginys nekvestionuojamas. Tačiau NVI patirtis rodo, jog LPR trukmė gali būti vos 30 minučių ilgesnė.	-----

*Šių publikacijų autoriai ARP ir LRP rezultatų tiesiogiai nelygino. Rezekcinių kraštų dažnio rezultatai paimti iš atskirų studijų ir įrašyti atskirose lentelės grafose. Papildomai ši tema nagrinėjama 5 lentelėje.

3. TYRIMO METODAI

3.1. Tiriamoji grupė. Įtraukimo į studiją kriterijai

Tyrimui atlikti išduotas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimas (Nr. 158200-17-928-442), taip pat Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos leidimas atlikti asmens duomenų tvarkymo veiksmus (Nr. 2R-2129 (2.6-1)). Iš kiekvieno tiriamojo paciento gautas raštiškas informuoto asmens sutikimas.

Tyrimas buvo atliekamas remiantis Lietuvos Respublikos įstatymais. Tyrimas atliktas pagal Helsinkio deklaracijos gaires, patvirtintas 2017 m. spalio 11 d. (protokolo kodas 2R-6299-(2.6-1.), patvirtinimo data – 2017 m. spalio 11 d.).

Prieš operaciją ligos išplitimui įvertinti ambulatoriškai visiems ligoniams buvo atliekamas dubens MRT tyrimas, kraujo ir biocheminiai tyrimai, aukštos rizikos ligoniams – ir kaulų skenavimas (atliktas skenavimas 99-techneciu): 1) esant cT1 ligai ir PSA > 20; 2) esant cT2 ligai ir PSA > 10; 3) esant Gleason \geq 8; 4) esant bet kurios stadijos ligai, kurios simptomai leidžia įtarti kaulų metastazes. Atliktas bendrasis kraujo tyrimas, tirtas kalis, natriis, kreatininas, gliukozė, SPA/INR, DATL, ŠF (šarminė fosfatazė), AST (asparagininė aminotferazė), ALT (alanininė aminotferazė), bendrasis bilirubinas, atliktas šlapimo tyrimas, elektrokardiograma, krūtinės ląstos rentgenograma (tiria šeimos gydytojas prieš siūsdamas operacijai, trūkstami tyrimai atliekami NVI ligonį stacionarizavus dieną prieš operaciją).

Ligoniai, perėję multidisciplininę komisiją, kur paašškintos visos galimos prostatos vėžio gydymo ir stebėjimo galimybės, stacionarizuoti į NVI prostatos vėžio operaciniam gydymui. Stacionarizavus buvo pateikiama informuoto asmens sutikimo forma. Jeigu pacientas sutiko būti įtrauktas į tyrimą, pasirašė informuoto asmens sutikimą. Tokiems pacientams paskirtos tolesnio pooperacinio stebėjimo datos. Prieš operaciją pacientai tirti, apimant ligos ir gyvenimo anamnezę, fizinę apžiūrą, vartojamų vaistų įvertinimą, nustatant bendrą būklę pagal Rytų jungtinės onkologijos grupės (ECOG) skalę, kūno masės indeksą.

Kiekvienam tiriamajam pacientui priskirtas specialus identifikatorius – skaičius, pagal kurį negalima išsiaiškinti paciento tapatybės. Šis skaičius naudotas vietoj paciento vardo ir pavardės. Tyrime sutikę dalyvauti pacientai pagal registravimo į tyrimą eilės numerį suskirstyti į dvi grupes: lyginiai skaičiai – laparoskopiskai operuojami ligoniam, nelyginiai – atviruoju būdu

operuojami lignoniai.

Iš viso į tyrimą įtraukti 108 PV sergantys pacientai (žr. 7 lentelę). Pacientų įtraukimo į studiją kriterijai buvo šie:

1. Vyrai, kuriems nustatyta prostatos adenokarcinoma cT1-3, N0-1, M0.
2. Amžius: 45–75 m.
3. ECOG < 2.

4. Kompensuota kardiovaskulinė (normali išmetimo frakcija (>50 %), nėra miokardo išemijos požymių elektrokardiogramoje), pulmonalinė (ne didesnis kaip lengvas (pirmas) lėtinės obstrukcinės plaučių ligos (LOPL) laipsnis), hematologinė (bendrasis kraujo tyrimo rezultatas – be kliniškai reikšmingų pokyčių) būklė.

5. Pacientai, pasirašę informuoto paciento sutikimo formą.

Neįtraukimo kriterijai:

1. Iki įtraukimo į šį tyrimą ar 3 mėn. laikotarpiu po RP taikytas bet koks prostatos vėžio gydymas (chemoterapija, hormonoterapija, chirurginė kastracija, imunoterapija, spindulinė terapija).

2. Imuninės sistemos ligos (autoimuninės ligos (raudonoji vilkligė, reumatoidinis artritas, sisteminis vaskulitas, sklerodermija, autoimuninis tiroiditas ir kt.), imunodeficitas (AIDS ir kt.).

3. Biomedicininio tyrimo metu esanti kliniškai pasireiškianti arba medikamentiškai gydoma alergija.

4. Ligonis serga ar sirgo ne prostatos, o kitos rūšies vėžiu.

5. Chirurginis gydymas, taikytas 1 m. laikotarpiu.

6. Kraujo ir kraujodaros organų ligos bei tam tikri sutrikimai, susiję su imuniniais mechanizmais (hemolizinės anemijos, aplastinės anemijos, leukemijos, limfomos, mielodisplastiniai sindromai ir kt.).

7. Inkstų funkcijos nepakankamumas (sumažintas GFG), kepenų ligos ar pakitę kepenų funkcijos rodikliai (AST, ALT, ŠF, bendrasis bilirubinas).

8. Infekcija (pakitimai prieš operaciją atliktuose tyrimuose: leukociturija, augant bakterijoms šlapimo pasėlyje, infekcinis procesas (pneumonija, abscesas, hepatitas ar kt.) nuo kurio gydymo iki įtraukimo į biomedicininį tyrimą praėję mažiau nei 1 mėn.).

9. Perioperaciniu laikotarpiu atlikta hemotransfuzija.

10. Iki operacijos ir 3 mėn. pooperaciniu laikotarpiu leukocitų skaičius viršijo $10\,000\ \mu\text{L}^{-1}$.

11. Opiatų, kortikosteroidų vartojimas.

Klinikinė stadija vertinta pagal TNM klasifikaciją (UICC, 2017 m., VIII leidimas). Prostatos biopsijos metu buvo paimta >10 bioptatų, o prieš digitalinį tiesiosios žarnos tyrimą išmatuotas PSA. Biopsijoje vertinta ISUP, Gleasono balas; pT stadija buvo vertinama pagal TNM klasifikaciją (UICC,

2017 m., VIII leidimas).

Tiriamųjų pacientų klinikiniai pataloginiai duomenys pateikiami 3 lentelėje.

3 lentelė. *Tiriamosios grupės klinikiniai pataloginiai duomenys*

<i>Bendroji tiriamųjų pacientų charakteristika</i>	
Pacientų skaičius (%)	108 (100 %)
Amžius (metai)	
<61 m.	40 (37,0 %)
61–65 m.	29 (26,9 %)
>65 m.	39 (36,1 %)
Ikioperacinė PSA (ng/mL) reikšmė	
<4 ng/mL	15 (13,9 %)
4–10 ng/mL	71 (65,7 %)
>10 ng/mL	22 (20,4 %)
Leukocitų skaičius (ląstelių / μ L)	6,02 (5,1–8,0)
Absolūtus limfocitų skaičius (ląstelių / μ L)	2,12 (1,6–2,7)
Ekstrakapsulinis naviko plitimas	28 (25,9 %)

Kraujo mėginiai imunofenotipavimui imti stacionarizavus tiriamąjį operacijai dieną prieš operaciją; pirmą pooperacinę dieną; septintą pooperacinę dieną; trisdešimtą pooperacinę dieną, ligoniui atvykus ambulatoriškai PSA pooperacinei kontrolei; praėjus 90 dienų po operacijos, ligoniui atvykus ambulatoriškai pooperacinei PSA kontrolei. Ambulatorinių apsilankymų laikotarpiu galima 3 dienų paklaida dėl švenčių ar savaitgalių. Toliau pacientai stebėti atliekant PSA ir DRT po 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48 ir 60 mėnesių.

CRB tirtas pooperacinėms uždegiminėms komplikacijoms monitoruoti 7 pooperacinę dieną. CRB esant daugiau negu 100, atliekamas prokalcitonino testas. Jeigu jis viršija 0,5, ligonis šalinamas iš tyrimo ir gydomas pagal sepsio protokolą.

Kadangi tyrimais nustatyta anestezijos ir opiatų įtaka imuninei sistemai slopinti, suvienodinta narkozė ir pooperacinis nuskausminimas, siekiant apsaugoti imuninę sistemą nuo slopinimo. Tiek atvirosios, tiek laparoskopinės operacijos atveju taikoma totali intraveninė anestezija (TIVA) propafoliu, pooperacinis epidūrinis nuskausminimas ar vietinė subfascijinė nejautra, nenarkotiniai analgetikai, neskiriant opiatų. Minėto pooperacinio nuskausminimo nepakakus ir panaudojus opiatų, ligonis buvo šalinamas iš tyrimo.

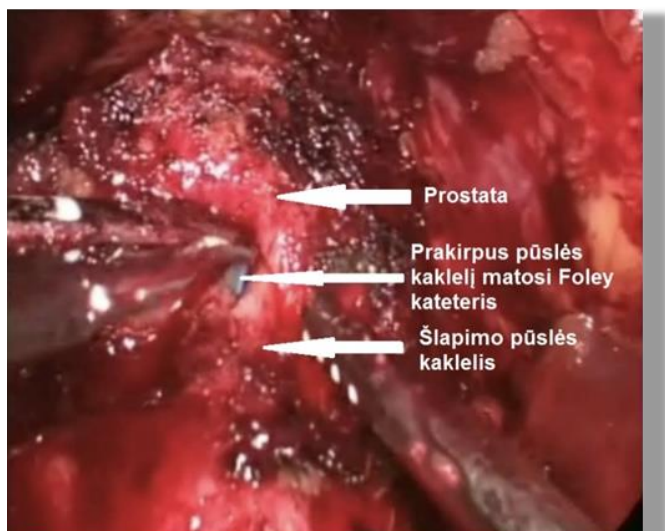
3.2. Operacijų atlikimo technika

3.2.1. Atviroji radikalioji prostatektomija

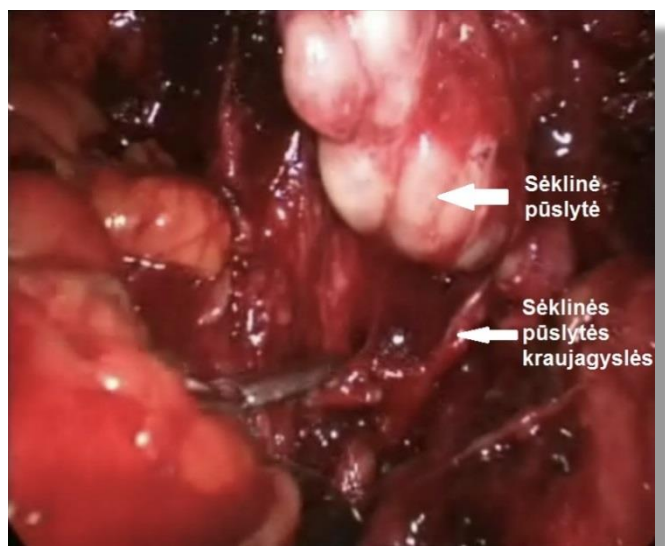
Taikant bendrinę nejautrą, paruošus operacinį lauką pjūviu vidurinėje pilvo linijoje žemiau bambos skalpeliu ir elektros peiliu, atliekant hemostazę elektrokauteriu ir vikriilo ligatūromis pasluoksniui įeita į retroperitoninį tarpą žemiau pilvo ertmės, neatveriant pilvaplėvės. Pasluoksniui prieita prie dubens diafragmos. Atliktos endopelvinės fascijos incizijos iš abiejų pusių. Abipus perkirpti *lig. puboprostaticum*. Ilgu disektoriumi virš uretros pravestos dvi 3-0 vikriilo ligatūros, kuriomis perrištas v. v. *dorsalis* kompleksas. Vėl po v. v. *dorsalis* kompleksu pravedus ilgą disektorių pastarasis atskirtas nuo prostatos. Ant prostatos esančios venos apsiūtos hemostatine ištisine 2-0 vikriilo siūle. A. ir v. *dorsalis* kompleksas persiūtas hemostatine UR siūle 2-0 vikriilu. Išdalyta uretra, pravedant po ja disektorių. Uretra cirkuliariai perpjauta tuoj už prostatos viršūnės. Foley kateteris ištrauktas, perkirptas. Švelniai keliant prostatą į viršų ir į šalis, ji išdalyta iš abiejų pusių, atskiriant nuo *m. levator uretrae*, paliekant Denovilio kapsulę ant prostatos. Hemostazė klipais ir ligatūromis. Ties prostatos pagrindu atlikus Denovilio kapsulės inciziją virš sėklinių pūslelių, pastarosios išdalytos ir atskirtos nuo mezorektumo. Suėmus spaustuku *ductus deferentis* abipus, jie liguoti 2-0 vikriilo ligatūromis ir perpjauti. Prostata atskirta nuo šlapimo pūslės kaklelio žirkklėmis, koaguliuojant elektrokauteriu ir liguojant vikriilu. Skalpeliu ir žirkklėmis perpjautas šlapimo pūslės kaklelis su gleivine. Prostata su sėklinėmis pūslelėmis pašalinta viename komplekse. Šlapimo pūslės kaklelis cirkuliariai apsiūtas ištisine 3-0 *rapid* vikriilo siūle, nežymiai išverčiant gleivinę. Papildomai atlikta kruopšti hemostazė elektrokauteriu ir vikriilo ligatūromis. Per varpą įvedus Ch20 Foley kateterį, suformuotos uretros bigės – šlapimo pūslės kaklelio anastomozė, susiuvant atraumatinėmis adatomis pavienėmis 2-0 monokriilo siūlėmis ties 2, 5, 7, 10 ir 12 val. Pripildžius Foley balionėlį 15 ml sterilaus fiziologinio skysčio, pritraukant šlapimo pūslės kaklelį prie dubens diafragmos, visos 5-ios siūlės liguotos. Pripildžius šlapimo pūslę fiziologiniu tirpalu, patikrintas anastomozės hermetiškumas. Paravezikaliai įstatyti drenai, kurie abipus išvesti per kontrapertūras šalia *m. rectus abdominis*. Raumeninis sluoksnis susiūtas pavienėmis vikriilo ligatūromis, aponeurozė – ištisine PDS siūle, paodis – pavienėmis vikriilo, oda – pavienėmis monokriilo siūlėmis. Sterilus tvarstis. Patikrintas Foley kateteris – funkcionuoja gerai.

3.2.2. Laparoskopinė radikalioji prostatektomija

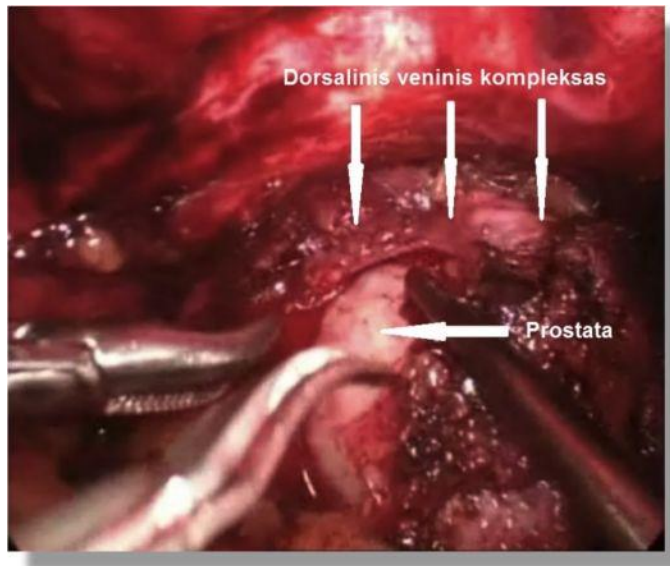
Taikant bendrinę nejautrą, paruošus operacinį lauką, prapjautas apie 20 mm pjūvis žemiau bambos, įvestas ekstraperitonealiai 10 mm diametro troakaras, fiksuotas prie *m. rectus abdominis* fascijos ir odos, abipus šalia *spina iliaca anterior superior* ir 5 cm medialiau įvesta dar po du troakarų: kairėje 5 mm diametro lateraliau ir 10 mm diametro medialiau, dešinėje abu po 5mm diametro. Pasluoksniui įeita į retroperitoninį tarpą žemiau pilvo ertmės, neatveriant pilvaplėvės. Pasluoksniui prieita prie dubens diafragmos. Atliktos endopelvinės fascijos incizijos iš abiejų pusių. Prostata atskirta nuo šlapimo pūslės kaklelio žirkklėmis, koaguliuojant bipoliariniu disektoriumi. Žirkklėmis perkirtas šlapimo pūslės kaklelis su gleivine (2.1 pav.). Ties prostatos pagrindu, atlikus Denovilio kapsulės inciziją virš sėklinių pūslelių, pastarosios išdalytos ir atskirtos nuo mezorektumo. Suėmus laparoskopiniu žarniniu spaustuku *ductus deferentis* abipus, jie išdalyti ir perpjauti. Išdalytos sėklinės pūslytės (2.2 pav.). Už jų, švelniai keliant prostatą į viršų ir į šalis, ji išdalyta iš abiejų pusių, identifikuotos ir klipuotos abipus prostatinės arterija ir vena. Prostata išdalyta nuo aplinkinių audinių. Abipus perkirpti *lig. puboprostaticum*, persiūtas ir perkirtas *v. v. dorsalis* kompleksas (2.3 pav., 2.4 pav.). Prostata atskirta nuo *m. levator uretrae*. Išdalyta uretra (2.5 pav.). Foley kateteris ištrauktas. Uretra cirkuliariai perkirpta žirkklėmis tuoj už prostatos viršūnės (2.6 pav.). Per 10 mm diametro troakarą į retroperitoninį tarpą šalia prostatos įdėtas sterilus maišelis. Į jį įdėta prostata su sėklinėmis pūslelėmis. Per varpą įvedus Ch20 metalinį bužą, suformuota uretros bigės – šlapimo pūslės kaklelio – anastamozė (2.7 pav., 2.8 pav.), susiuvant atraumatinė adata ištisine 2-0 monokrilo siūle. Bužas pašalintas, įvestas Ch20 Foley. Foley kateterio balionėlis pripildytas 15 ml sterilaus fiziologinio skysčio. Pripildžius šlapimo pūslę fiziologiniu tirpalu, patikrintas anastamozės hermetiškumas. Sterilus maišelis su prostata pašalinti per anksčiau atliktą pjūvį žemiau bambos, esant reikalui jį padidinant. Per kairės pusės 20 mm diametro troakarą įstatytas drenas paravezikaliai. Laparoskopiniai pjūviai užsiūti vikriilo siūlėmis. Sterilus tvarstis. Patikrintas Foley kateteris – funkcionuoja gerai.



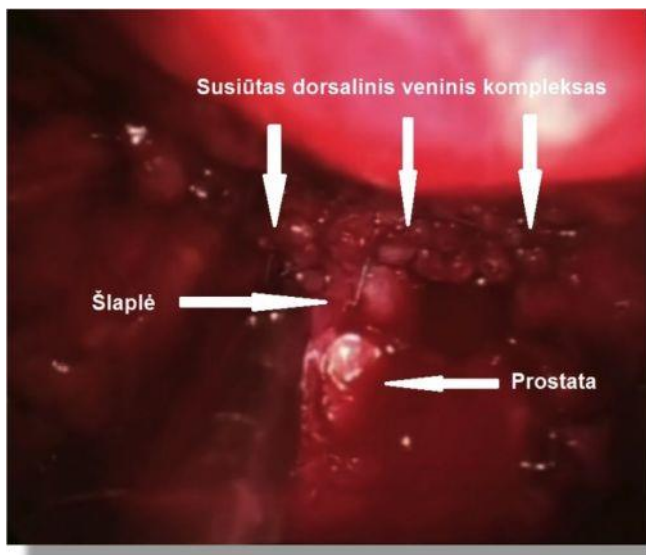
2.1 pav. LRP: šlapimo pūslēs atdalījimas nuo prostatos



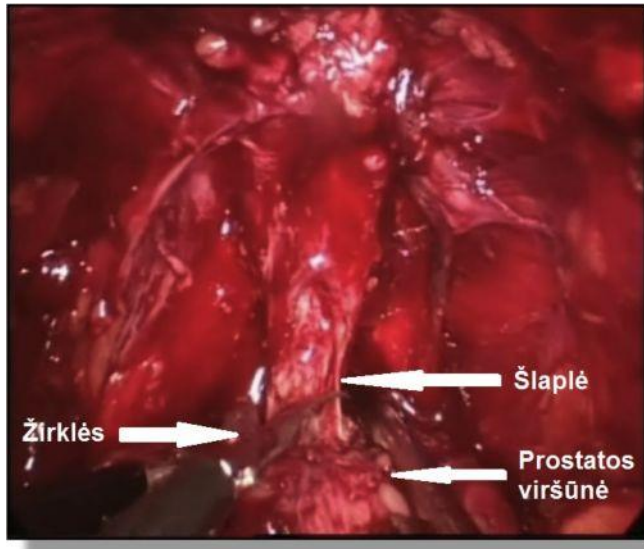
2.2 pav. LRP: séklinés pūslélés išdalījimas



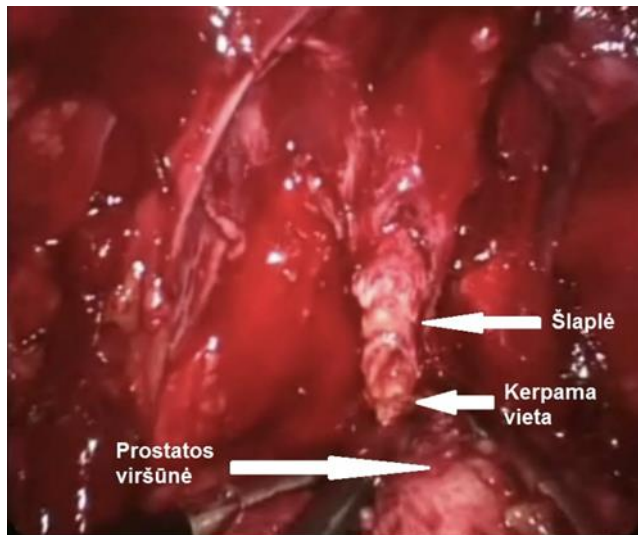
2.3 pav. LRP: perkerpamas v. v. dorsalis kompleksas



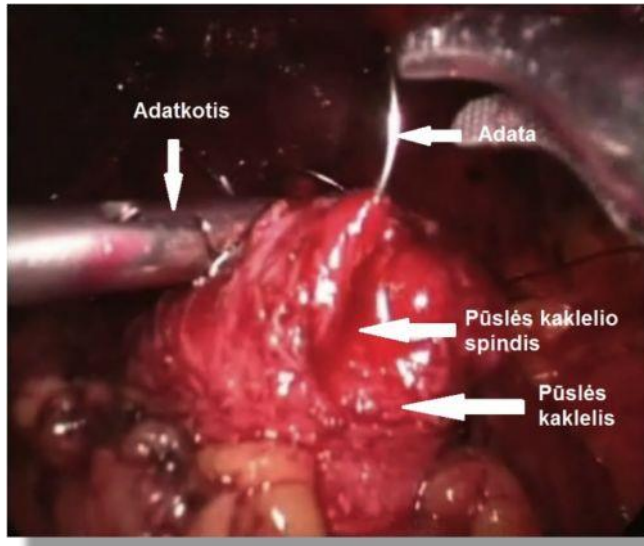
2.4 pav. LRP: susiūtas v. v. dorsalis kompleksas



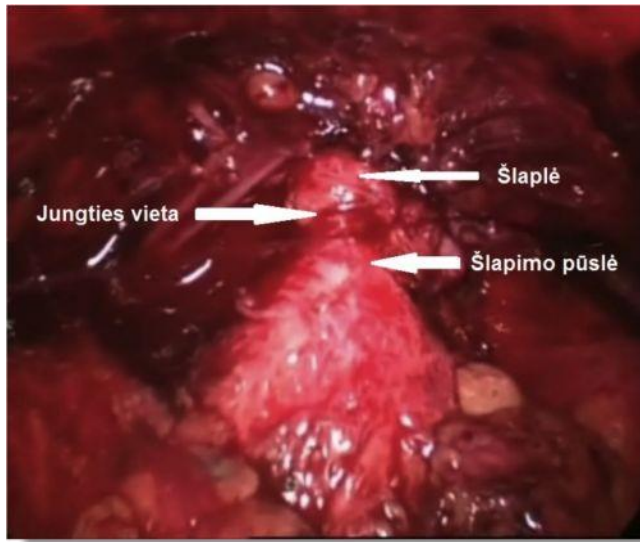
2.5 pav. LRP: šlaplės atidalijimas nuo prostatos



2.6 pav. LRP: šlaplės nukirpimas



2.7. LRP: uretrovezikinē jungtis. Persiuvamas pūslēs kaklelis



2.8. Suformuota šlapimo pūslės ir šlaplės jungtis

3.3. PSA nustatymas. ePSA konvertavimas. Hematologiniai ir citometriniai kraujo rodikliai

3.3.1. PSA nustatymas ir ECL technologija

Visi pooperaciniai PSA matavimai buvo atliekami tuo pačiu aparatu ir taikant tą pačią technologiją – elektrocheminę imunoluminescenciją (ECL) su rutenio mikrodalelėmis (2,8 pm). Naudotas analizatorius Cobas 601 (*Roche Diagnostics*, Šveicarija) ir „Elecsys“ technologija, todėl galėjome itin tiksliai įvertinti PSA ir apskaičiuoti tikslų ePSA rodiklį. Tyrimui naudojant „Elecsys PSA“ reagentą, apatinė jautrumo riba siekė 0,002 ng/ml, todėl tyrimas priskiriamas prie ultrajautrių matavimų kategorijos.

Prietaiso Cobas 601 PSA detekcijos „Sandwich“ principo aprašymas.

1-asis inkubavimas: 20 µL mėginio su biotinilintais monokloniniais PSA antikūnais ir monokloniniais PSA specifiniais antikūnais, paženklintais rutenio kompleksu.

2-asis inkubavimas: pridėjus streptavidinu dengtų mikrodalelių, kompleksas tampa susietas su kietąja faze per biotino ir streptavidino sąveiką.

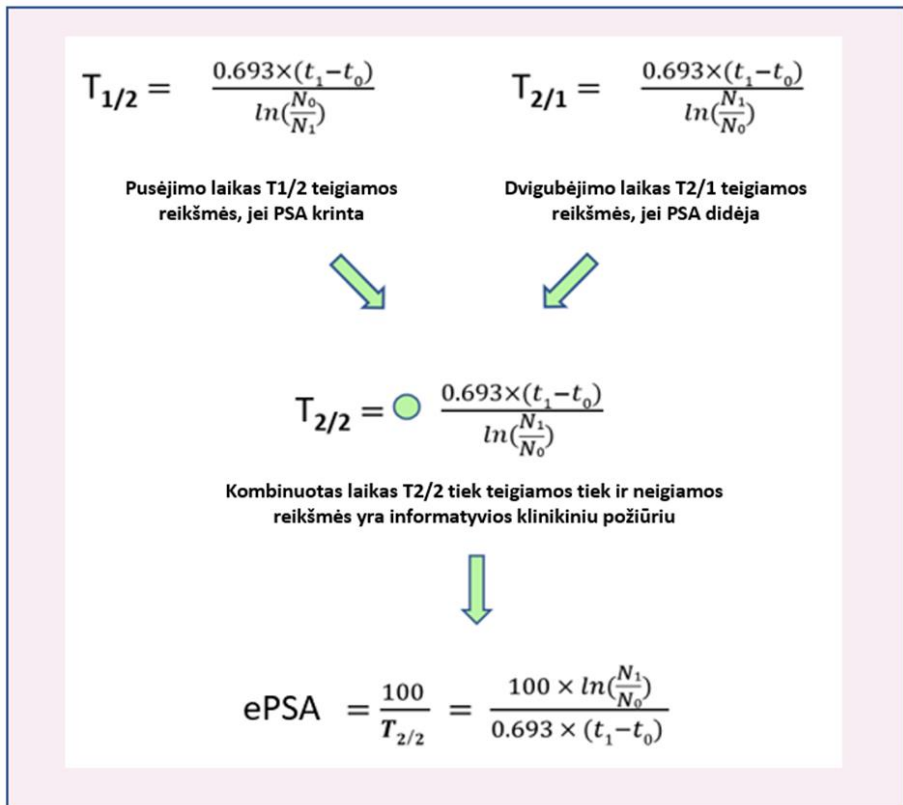
Toliau reakcijos mišinys įsiurbiamas į matavimo kamerą, kurioje mikrodalelės magnetu pritraukiamos prie elektrodo. Tuomet nesusietos medžiagos pašalinamos naudojant *ProCell* skystį. Vėliau elektrinio lauko sudarymas ties elektrodu sukelia chemoluminescencinę emisiją, kuri matuojama fotodaugintuvu. Rezultatai nustatomi naudojant kalibravimo kreivę, kuri specialiai generuojama kalibruojant du taškus, ir pagrindinę kreivę, pateiktą į analizatorių per reagento brūkšninį kodą.

3.3.2. Hematologinė analizė

Hematologinė analizė atlikta visiems tiriamiesiems pacientams, naudojant Sysmex NE-1000 (*Kobe*, Japonija) automatinį analizatorių su 5-diff automatine leukograma. Absoliutūs ir procentiniai leukogramos skaičiai iš tų pačių kraujo pavyzdžių vėliau buvo panaudoti vertinant ir perskaičiuojant tėkmės citometrijos rezultatus. Šis prietaisas per 60 sekundžių pateikia ir kitus citometrinius rodiklius (pvz., RDW%, RDW abs, PDW ir kt.), kuriuos taip pat panaudojome šiame darbe, siekdami įvertinti pooperacinę likutinę uždegiminę reakciją. Visų ligonių hematologiniai matavimai, tyrinėti šiame darbe, buvo atlikti ta pačia Sysmex technologija ir tuo pačiu prietaisu.

3.3.3. ePSA konvertavimas

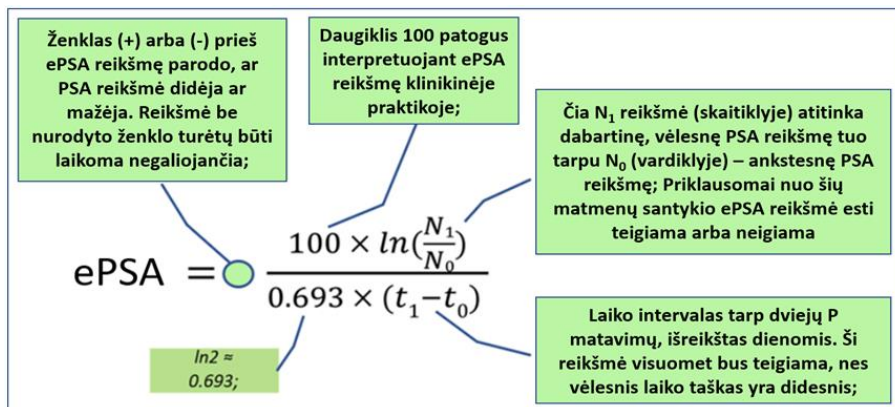
PSA mažėjimo greitį šio tyrimo metu vertinome savo pasiūlyta metodika, kuri pasižymi matematinio interpretavimo pranašumais. Tai matmuo, kuris yra atvirkščias pusėjimo ir dvigubėjimo laikui ir šiek tiek panašus į specifinio augimo greičio rodiklį. ePSA reikšmei nustatyti labai svarbu turėti tikslus du laiko momentus, išreikštus dienomis, ir du itin tikslus PSA matavimus, atliktus tais laiko momentais. Norėdami detaliau paaikškinti konvertavimo eigą, ją pavaizdavome 2.1.1 pav. ir 2.1.2 pav.



2.1.1 pav. ePSA formulė ir ePSA vertės skaičiavimo principai

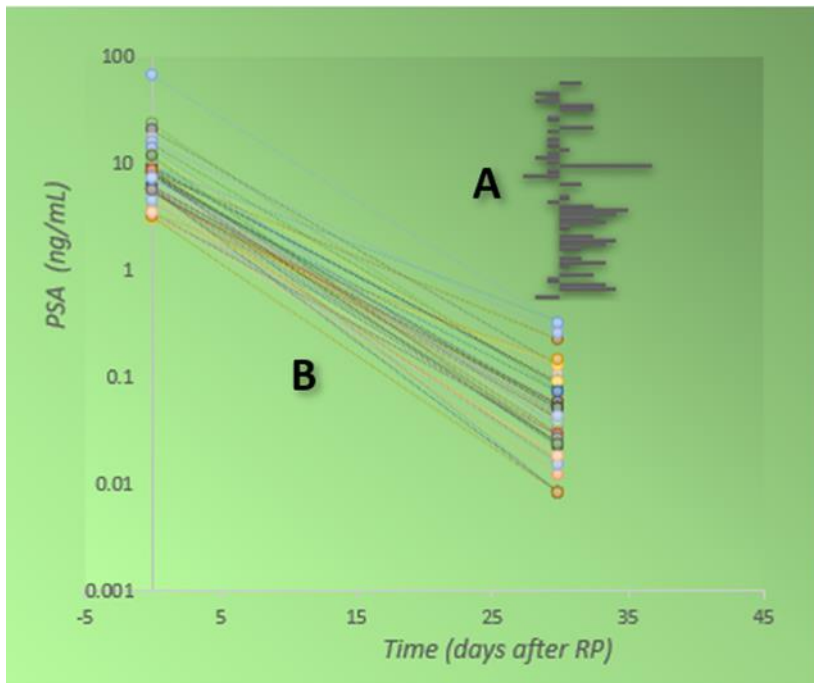
Vaizduojama ePSA formulė sujungia pusinės eliminacijos laiko ir dvigubėjimo laiko formules. Pusinės eliminacijos laiko ir dvigubėjimo laiko vertės yra tarpusavyje nesuderinamos, nes šiomis formulėmis apskaičiuotas pokyčių dydis skirtas priešingiems reiškiniams apibūdinti (PSA mažėjimas palyginus jį su PSA didėjimu). Dviejų PSA verčių santykio natūrinis logaritmas bus neigiamas, jei dabartinė PSA vertė (N1) yra mažesnė už ankstesnę (N0), ir atvirkščiai. Jeigu neigiama vertė vis dėlto turi klinikinę reikšmę tokią pat, kaip ir teigiama vertė, siūlome naudoti kombinuotą pusinį ir dvigubėjimo laiką, pažymint jį T2/2. Tačiau

kliniškai neiški T2/2 interpretacija atsiras tuo atveju, jei $N_1 = N_0$ (vardiklis lygus „0“, o T2/2 reikšmė yra begalinė), nors akivaizdu, kad $N_1 = N_0$ šiame scenarijuje reiškia, kad nėra jokio pokyčio arba yra „nulinis greitis“). Todėl atvirkštinė vertė, būtent $1:T2/2$, bus kliniškai priimtina ir matematikos požiūriu teisinga. Daugiklis 100 naudojamas reikšmės dimensijai paversti į procentus.



2.1.2 pav. ePSA formulė ir jos sudėtinių dalių detalizavimas

ePSA rodo procentinę PSA padidėjimą arba sumažėjimą per vieną dieną. Siekiant nustatyti ePSA, būtina žinoti dvi PSA vertes ir laiko intervalą (išreikštą dienomis) tarp jų. Siūlome naudoti skliausteliuose įrašytą ePSA „+“ arba „-“ ženklą, apibūdinantį PSA progresavimo ar regresavimo kryptį. Pavyzdžiui, ePSA = (-) 24 % d-1 apibūrina greitą PSA mažėjimą po naviko pašalinimo, o ePSA = (+) 0,004 % d-1 vaizduoja lėtą progresavimą. Kuo didesnė vertė, tuo greitesnis PSA pokyčio tempas. Teigiamos ePSA vertės, viršijančios (+) 1,1 d-1, rodo likutinį naviką. Ankstyvas pooperacinis PSA eliminavimas iš kraujo gali būti pažymėtas kaip laiko intervalas tarp „0“ laiko taško (RP diena) ir vieno mėnesio kraujo mėginių ėmimo laiko taško. Pavyzdžiui, ePSA (0-1) = (-) 26,1 d-1 (gana greitas PSA pašalinimas ankstyvuju pooperaciniu laikotarpiu). Panašiai pooperacinė ePSA vertė gali rodyti pokyčio greitį tarp dviejų laiko taškų, kurie yra labai atskirti vienas nuo kito, arba nuo operacijos atlikimo momento (pvz., ePSA (36-48) = (+) 0,004 d-1 (tai iš esmės rodo, kad PSA reikšmė nesikeičia 36 dienas, palyginti su 48 dienų laiko intervalu). Atvirkštinio T2/2 laiko biologinė reikšmė yra panaši į žinomą farmakokinetinį parametą „Kel“ – pašalinimo greičio konstantą. Šalinimo greičio konstanta (Kel) yra tiesios linijos nuolydis skalėje ir naudojama farmakologinių preparatų pašalinimo greičiui apskaičiuoti. Kel konstantos dimensijos reikšmė, taip pat kaip ePSA, yra atvirkštinė laiko vertė – hr^{-1} .



2.2 pav. Bandomasis tyrimas su 44 tiriamųjų pacientų kraujo pavyzdžiais ePSA vertės priklausomumui nuo tyrimo dienos nustatyti

Visiems tiriamiesiems pacientams pagal pooperacinės stebėsenos schemą buvo nurodyta atvykti po vieno mėnesio. Pacientai atvyko tarp 27 ir 37 dienos po operacijos. Žinant teorinį pooperacinį PSA pusinės eliminacijos laiką (skirtingų tyrėjų duomenimis, jis svyruoja tarp 1,5–3,17 dienos), akivaizdu, kad tokios didelės atvykstančiųjų PSA tyrimui laiko intervalo ribos gali būti netiksliai interpretuojamos. Iš tikrųjų ne pati reikšmė, bet jos kitimo greitis, tiksliai įvertinant tyrimo dieną, yra tas matmuo, kuriuo vadovautis būtų naudinga. 2.2 paveiksle pavaizduotas individualus ligonių kraujo paėmimo momentas (A) ir PSA kritimo greitis (B). Visų ligonių pooperacinės PSA reikšmės yra perskaičiuotos tai reikšmei, kuri būtų nustatyta, jeigu ligonio kraujas būtų imamas 30 dieną. Ties A žyme pavaizduota horizontali stulpelinė diagrama, iliustruojanti kraujo paėmimo momentą ligoniams, kuriems jis imtas anksčiau (stulpeliai į kairę) arba vėliau (stulpeliai į dešinę) negu medianinė 30-oji diena. Tik pakoreguota PSA reikšmė sudaro visavertį pooperacinės dinamikos vaizdą.

3.4. Periferinio kraujo imunofenotipavimas

Kraujo mėginio paėmimas. Kraujo paėmimo procedūrą atliko NVI poliklinikos ar Urologinio skyriaus stacionaro procedūrinio kabineto slaugos personalas. Citometriniis kraujo tyrimas buvo atliekamas Imunologijos laboratorijoje. Kraujas buvo imamas iš paciento alkūnės linkio venos į vakuuminį mėgintuvėlį violetiniu dangteliu su antikoaguliantu EDTA. Mėgintuvėlis su krauju pažymėtas nurodant paciento identifikavimo kodą. Paciento kraujo leukograma nustatyta NVI Laboratorinių tyrimų skyriaus Hematologijos laboratorijoje. Į sandarų plastikinį paketą, skirtą pavojingoms medžiagoms gabenti, įdėtas mėgintuvėlis su krauju buvo pristatomas į laboratoriją. Kraujas iki tyrimo laikomas kambario temperatūroje ne ilgiau 6 val., o citometrinė analizė atliekama ne vėliau kaip per 24 val.

Limfocitų paviršinių žymenų identifikavimas su monokloniniais antikūnais (IMoAK). Į keturis citometrinius mėgintuvėlius (Beckton–Dickinson) įlašinama po 20 μl paviršinių moAk, konjuguotų su fluorochromais, atitinkamai: 1) anti-CD56-PE/anti-CD16-APC/anti-CD3-FITC/anti-CD19-BV421™/anti-CD45-PerCP; 2) anti-CD25-PE/anti-CD4-FITC/ anti-CD3-APC; 3) anti-CD8a-FITC/anti-CD69-APC/anti-CD3-BV510™/anti-CD28-PE/Cy5; 4) anti-HLA-DR-PE/anti-CD14-FITC/anti-CD11b-BV421™/anti-CD33-APC ir pridėdama po 100 μL kraujo į kiekvieną mėgintuvėlį. Mėgintuvėliai supurtomi purtykle ir 15–20 min. laikomi kambario temperatūroje tamsoje. Praėjus nustatytam laikui, į kiekvieną mėgintuvėlį įpilama po 1 ml eritrocitus lizuojančio FACS tirpalo (skiedimo santykis – 1 ml koncentruoto lizuojančio FACS tirpalo + 9 ml distiliuoto H₂O), mėgintuvėliai supurtomi ir 10 min. inkubuojami kambario temperatūroje tamsoje (negalima perlaikyti!). Po inkubacijos centrifuguojama 7 min. 250 g greičiu, supernatantas atsargiai nupilamas, ląstelės nusauginamos ir plaunamos 1 ml PBS plovimo buferiniu tirpalu. Supurtoma ir centrifuguojama 7 min. 250 g greičiu. Po centrifugavimo supernatantas iš 1 ir 4 mėgintuvėlio nupilamas, ląstelės nusauginamos ir fiksuojamos 300 μl CellFix tirpalu (skiedimo santykis – 1 ml koncentruoto CellFix tirpalo + 9 ml distiliuoto H₂O). Ląstelės užfiksuojamos mėgintuvėlių purtant. Vertinant nespecifinį molekulių prisijungimą, kiekvienam moAk naudojome izotipinių IgG1/IgG2a/IgG2b kontrolę.

Limfocitų viduląstelių žymenų fenotipavimas. Po limfocitų paviršinių žymenų dažymo buvo atliekamas papildomas kraujo limfocitų viduląstelių žymenų identifikavimas. Atlikus centrifugavimą, supernatantas iš 2-o ir 3-io mėgintuvėlių buvo nupilamas, ląstelės nusauginamos ir atsargiai supurtomos. Paruošiamas fiksavimo / permeabilizavimo buferinis tirpalas: 0,25 ml

fix/perm koncentrato + 0,75 ml fix/perm-diluent skiediklio (Beckton–Dickinson). Inkubuojama 30 min 0,5 ml fix/perm buferiniame tirpale kambario temperatūroje, tamsoje. Po inkubacijos ląstelės plaunamos 1 ml permeabilizacijos buferiu (skiedimo santykis – 1 ml koncentruoto perm buferio + 9 ml distiliuoto H₂O) ir centrifuguojamos 7 min 250xg greičiu. Supernatantas nupilamas, ląstelės nusausinamos ir supurtomos. Į ląstelių suspensiją įlašinama 20 µL viduląstelinių žymenų moAk: 2) anti-FoxP3-BV421™; 3) anti-IFN-gama-PE/anti-FoxP3- BV421™ ir 30 min inkubuojama kambario temperatūroje, tamsoje. Po inkubacijos ląstelės plaunamos 1 ml permeabilizacijos buferiu ir centrifuguojamos 7 min 250xg greičiu. Supernatantas nupilamas, ląstelės nusausinamos ir supurtomos. Ant ląstelių užpilama 300 µL buferinio plovimo tirpalo (*cell wash*) ir analizuojama tėkmės citometru. Mėginiai iki analizės buvo laikomi šaldytuve, o paskui surenkami tėkmės citometru per 24 val. Tėkmės citometru renkama mažiausiai 50 000 ląstelių.

Fluorochromai:

PE – fikoeritinas,

APC – alofikocianinas,

FITC – fluoresceino izotiocianatas,

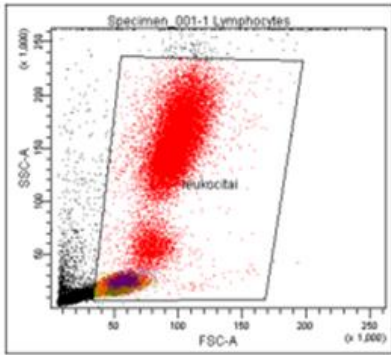
PerCP – peridinino-chlorofilo proteinas,

PE/Cy5 – fikoeritrino ir cianino tandemas,

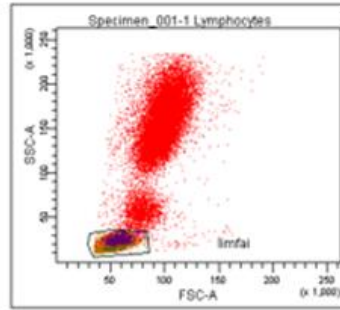
Brilliant Violet 421/510™ – briliantinis violetas.

Tėkmės citometrija. T ir B limfocitų ląstelių paviršinių bei viduląstelinių žymenų raiškos analizė buvo atlikta LSR II tėkmės citometru, turinčiu tris lazerius (*VioFlame 405 nm*, *Sapphire blue 488 nm* ir *HeNe 633 nm*) ir galinčiu aptikti 8 skirtingų spalvų fluorescencijas. Limfocitai nuo monocitų ir granulocitų buvo atskirti pagal priekinę ir šoninę lazerio šviesos sklaidas. Nespecifinei monokloninių antikūnų sąveikai su ląstelėje esančiomis įvairiomis molekulėmis atskirti buvo naudotos izotipinės kontrolės. Ląstelės buvo išanalizuotos taikant kompiuterinę *FACSDiva* programą.

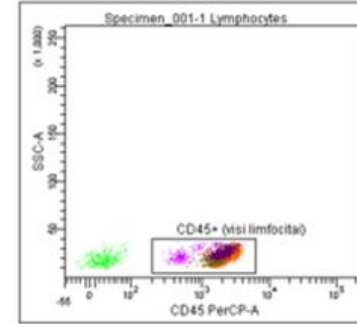
Imuninių ląstelių identifikavimo langai parodyti 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8 pav.



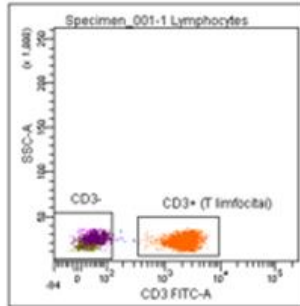
1. Leukocitų langas pagal FSC/SSC



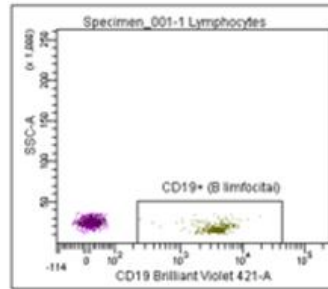
2. Limfocitų išankstinis langas pagal FSC/SSC



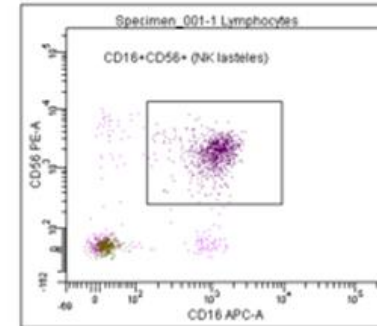
3. CD45+ grynų limfocitų langas kuris įeina į statistiką



4. CD3+ ir CD3- limfocitų langai

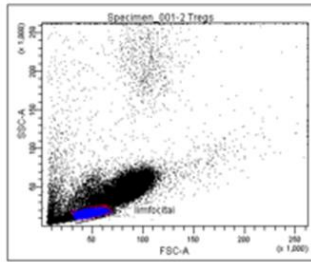


5. B limfocitų langas pagal CD3-/CD19+

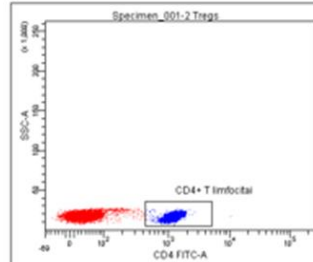


6. NK ląstelių langas pagal CD16+/CD56hi

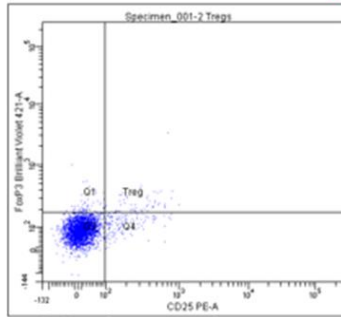
2.3 pav. Pirmasis mėgintuvėlis su monoklonų kokteiliu. Identifikuojamos ląstelės: CD3+, CD19+ ir NK ląstelės



1. Limfocitų langas pagal FSC/SSC

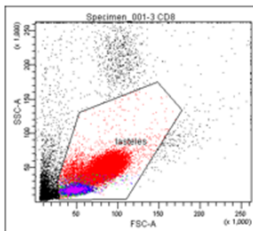


2. CD4+ limfocitų langas

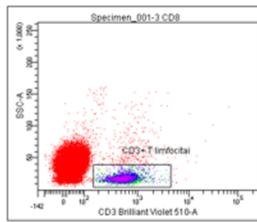


3. Treg langas pagal CD25+/FoxP3+

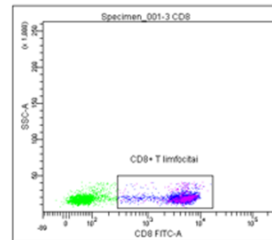
2.4 pav. Antrasis mėgintuvėlis su monoklonų kokteiliu. Identifikuojamos ląstelės CD4+ ir CD4+25+FoxP3+



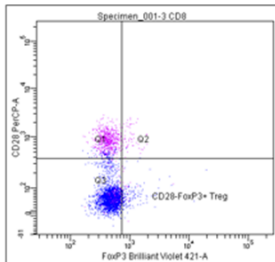
1. Leukocitų langas pagal FSC/SSC



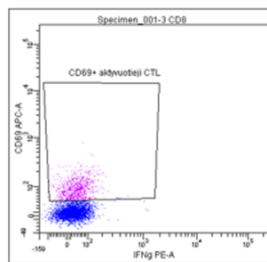
2. Limfocitų langas pagal CD3+



3. CD8+ CTL langas

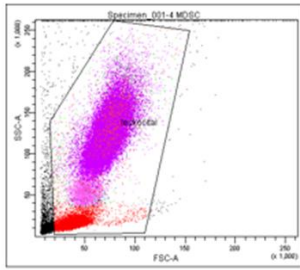


4. CD8 Treg langas pagal CD8- /FoxP3+

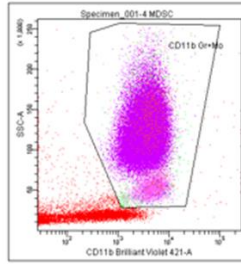


5. Aktyvuotų CTL langas pagal CD69+

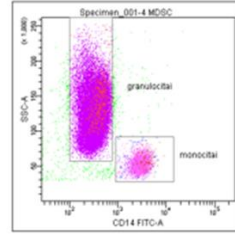
2.5 pav. Trečiasis mėgintuvėlis su monoklonų kokteiliu. Identifikuojamos ląstelės CD8+, CD8+69+, CD8+28-



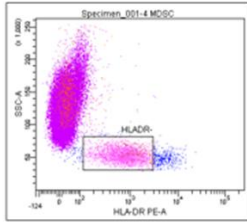
1. Leukocitų langas pagal FSC/SSC



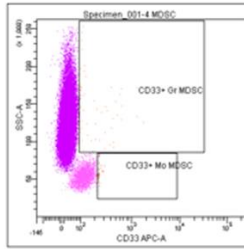
2. Mielo-mono langas pagal CD11b+



3. Gr ir Mo langai pagal CD14

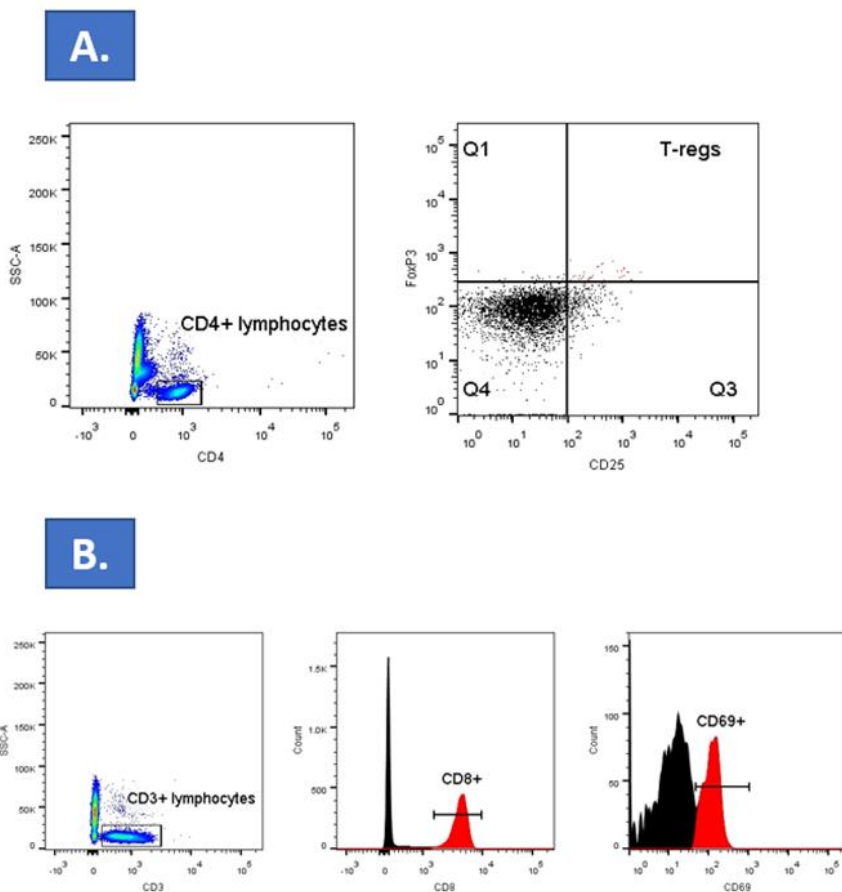


4. Mo-MDSC išankstinis langas pagal HLA-DR-



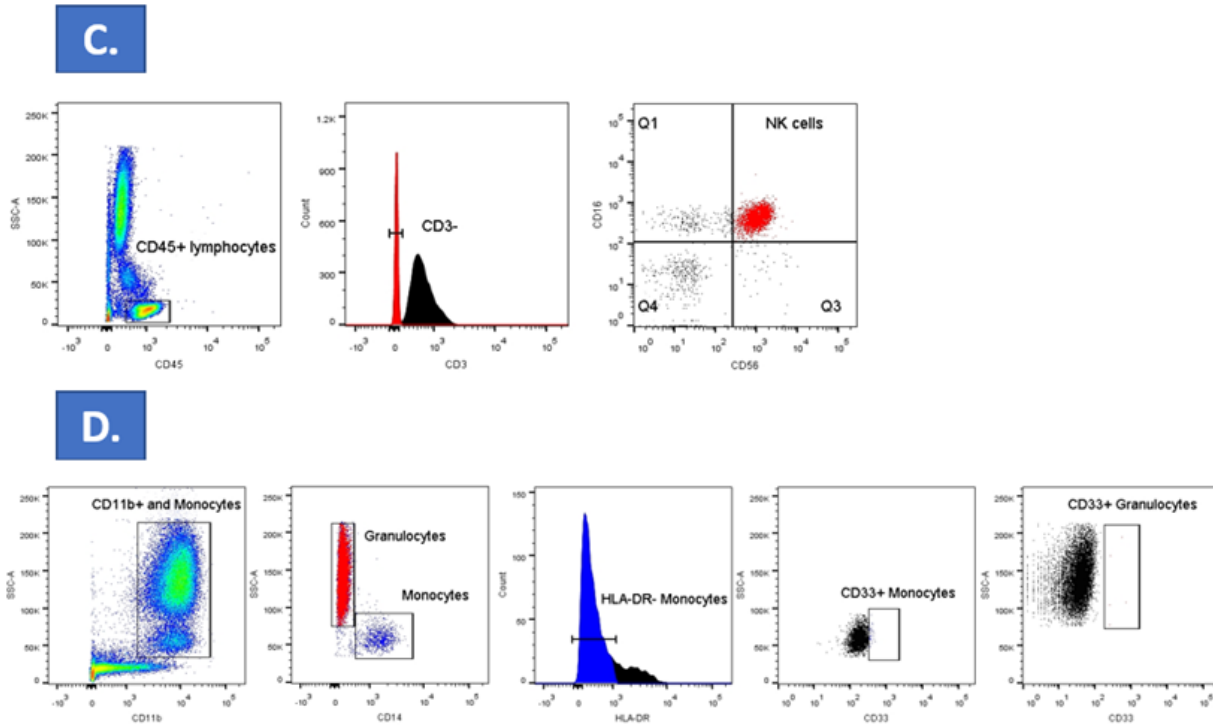
5. Gr-MDSC ir Mo-MDSC pagal CD33+

2.6 pav. Ketvirtasis mėgintuvėlis su monoklonų kokteiliu. MDSC ląstelių potipių identifikavimas



2.7 pav. Citometriniai langai, panaudoti Treg ir CTL ląstelėms identifikuoti

Visi mėginiai prieš analizę identifikacijos languose buvo tiriami išankstiniuose languose išskiriant tik pavienes ląsteles (*singlets*) tolesnei analizei pagal FSC-H/FSC-A ir SSC-H/SSC-A. (A grupė. Treg ląstelių: CD4 + limfocitų analizuojamas dvigubai teigiamas dažymas CD25 ir FoxP3. B grupė. CTL: CD3+ limfocitai vertinami dėl papildomos CD8 ekspresijos, o vėliau ir dėl CD69 žymenų.)



2.8 pav. Citometriniai langai, panaudoti NK ir MDSC ląstelių identifikavimui.

Visi mėginiai prieš analizę identifikacijos languose buvo tiriami išankstiniuose languose išskiriant tik pavienes ląsteles (*singlets*) tolesnei analizei pagal FSC-H/FSC-A ir SSC-H/ SSC-A. (C grupė. NK ląstelės: CD45+ limfocitai išskiriami minusuojant CD3 ląsteles; šiam žymeniui neigiamas langas toliau analizuojamas CD16+CD56+ NK ląstelių tikslinės populiacijos atžvilgiu. D grupė. Mo-MDSC ir Gr-MDSC: CD11b+ granulocitai ir monocitai tiriami atskirai. Granulocitų populiacijoje tikslinės ląstelės yra CD33+, o monocitų populiacijoje – HLA-DR-/CD33+.)

3.5. Statistinė analizė

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant IBM SPSS 21.0 (SPSS, Inc., Čikaga, USA) ir „Statistica 12“ (Stat soft, Tulsa, OK, USA) programas.

Tolydūs kintamieji buvo išreikšti vidurkiu su standartiniu nuokrypiu, standartine paklaida, pasikliautinoju intervalu, o diskretūs – mediana ir kvartiliais.

Kiekybinių duomenų normalumas tikrintas naudojant Šapiro ir Vilko (Shapiro–Wilk) kriterijų, histogramas bei Kolmogorovo ir Smirnov testą. Jeigu Šapiro ir Vilko kriterijaus p reikšmė buvo didesnė negu 0,05 ir histograma normaliojo skirstinio, laikyta, kad duomenys pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį. Jeigu skirstinys buvo nenormalusis, tokiems dviejų grupių duomenims lyginti taikytas Vilkoksono (Wilkokson) suderintų porų testas. Taip lyginome imuninių ląstelių kiekį prieš operaciją ir praėjus trims mėnesiams po operacijos. Jeigu lyginti daugiau negu dviejų grupių kiekybiniai duomenys, esant nenormaliajam skirstiniui, naudotas neparametrinis Kruskalo ir Voliso (Kruskal–Wallis) testas. Jis taikytas medianų skirtumams tikrinti. Esant nenormaliajam skirstiniui, lyginant priešoperacinius ir pooperacinius duomenis tarp MRG ir DRG arba ARP ir LRP grupių, naudotas Mano ir Vitnio (Mann–Whitney) nesuderintų porų testas.

Skaičiuojant B limfocitų pokyčius, naudota „Statistica 12“ programa. Tyrimui pasirinktas GEE (angl. *generalized estimating equations*) metodas. Skaičiuoti B koeficientai rodo nepriklausomų faktorių poveikio kryptį (minuso ženklas nurodo, kad ląstelių procentas mažėja, pliuso ženklas žymi ląstelių procentinį didėjimą). P reikšmės šalia B koeficiento įvertina, ar koeficientas reikšmingai keičia ląstelių procentinį arba santykinį pasiskirstymą.

Normaliai pasiskirsčiusių duomenų tarpusavio ryšiui nustatyti naudotas Pirsono (Pearson) koreliacijos testas. Esant nenormaliai pasiskirsčiusiems duomenims, taikytas Spirmeno rangų koeficientas (*Spearman's rank*). Ryšys tarp kintamųjų vertintas pagal koeficiento reikšmę: labai silpnas tarpusavio ryšys arba ryšio nėra (0,00–0,19), silpnas (0,20–0,39), vidutinis (0,40–0,69), stiprus (0,70–0,89) ar labai stiprus (0,90–1,00) ryšys.

Kaplano ir Mejerio (Kaplan–Meier) metodu lygintas išgyvenamumas, nesant BCR įvykių. Grupėms lyginti naudotas logaritminio rango (log-rank) kriterijus.

Prognostinių faktorių diagnostinis efektyvumas nustatytas naudojant ROC kreivių analizę – apskaičiuojant plotą po ROC kreive, jautrumą,

specifiškumą, slenkstines reikšmes.

Lyginant dvi nepriklausomas imtis, kurių skirstinys buvo normalusis, naudotas Stjudento t testas. Skirtumui tarp kategorinių kintamųjų nustatyti pasitelktas Chi kvadrato arba tikslusis Fisherio testas.

Lyginant dvi imtis, skirtumas laikytas statistiškai reikšmingu, kai $p < 0,05$.

4. REZULTATAI

4.1. Pacientų skirstymas į rizikos grupes

Norėdami įvertinti imuninių ląstelių kiekio pokyčio sąsajas su prostatos vėžio klinikiniais rodikliais (biopsijos bandinio įvertinimu pagal Gleasono balą, stadija, rezekciniu kraštu (R), metastazėmis sritiniuose limfmazgiuose (N1), PSA), klinikinius rodiklius suskirstėme į rizikos grupes. Didelės ir labai didelės rizikos grupei (DRG) priskirti ligoniai, turintys bent vieną iš šių kriterijų: pT3, Gleason $\geq 4+3$; N1, R1, PSA >20 . Vidutinės ir mažos rizikos grupei (MRG) priskirti pacientai, turėję bent vieną iš šių kriterijų: pT2, Gleason $<4+3$, N0, R0, PSA <20 .

4.2. Ligonių išgyvenamumo, nesant biocheminio atkryčio, analizė

Per stebėjimo laikotarpį (stebėjimo trukmės mediana – 32 mėn.) BCR pasireiškė 12 iš 83 pacientų (14,5 %) (ligoniai, kuriems buvo pritaikyta pooperacinė ankstyvoji ADT arba ST, nebuvo įtraukti į BCR rezultatų analizę). Tarp tiriamųjų pacientų, priklausančių DRG ir MRG, išgyvenamumo, nesant BCR, rodikliai statistiškai reikšmingai skyrėsi (3.1.A pav., *log rank* $p < 0,001$). Akivaizdžių skirtumų buvo matyti ir lyginant ligos stadiją pT2 su pT3 (3.1.B pav., *log rank* $p < 0,001$) bei lyginant išgyvenamumą pagal Gleasono balą (3.1.C pav., *log rank* $p < 0,001$). Tarp pacientų, kuriems atlikta ARP, ir pacientų, kuriems atlikta LRP, grupių nenustatyta statistiškai reikšmingo išgyvenamumo, nesant BCR, skirtumo (3.1.D pav., *log rank test* $p = 0,33$), tačiau geresnio išgyvenamumo, nesant BCR, tendencija ryškėja pacientų, kuriems atlikta LRP, grupėje. Tikėtina, kad toliau stebint pacientus, kai IS neslopinama anestezijos, geresnio išgyvenamumo, nesant BCR, rezultatai gali būti palankūs LRP.

4.3. Pooperaciniai PSA mažėjimo ypatumai

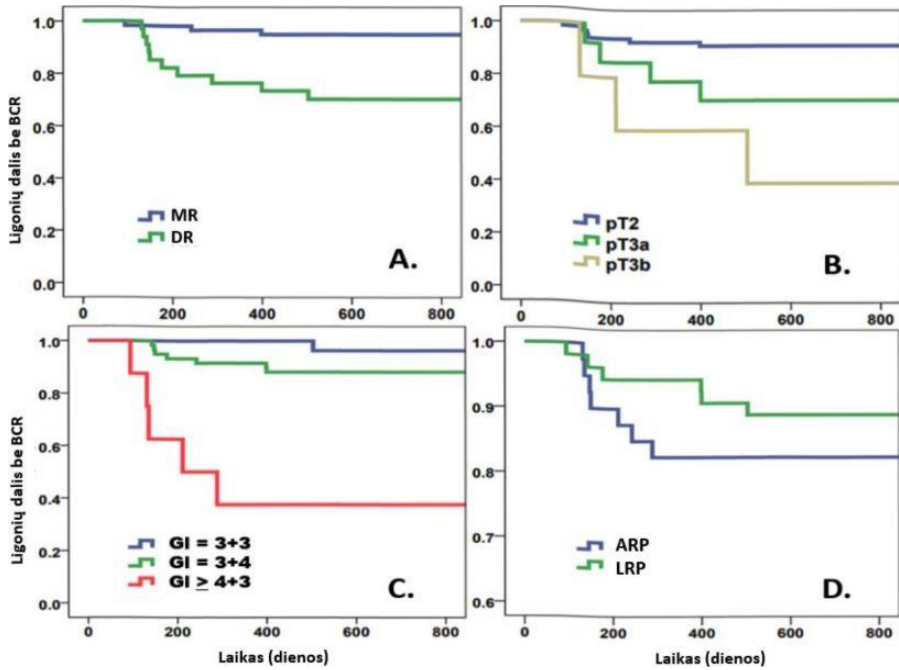
Naviko pašalinimas lėmė greitą ir reikšmingą PSA mažėjimą. Priešoperacinės ir pooperacinės PSA vertės MRG ir DRG pateiktos 4 lentelėje. 25 pacientams (23,1 %) per 1 mėn. pooperacinis PSA kiekis sumažėjo žemiau 0,02 ng/ml, o 81 pacientui (75 %) PSA lygis buvo 0,02 ng/ml arba didesnis. Trijų mėnesių laikotarpiu 61 pacientui (56,5 %) PSA vertės buvo mažesnės negu 0,01 ng/ml, o 43 pacientams (39,8 %) –

0,01 ng/ml arba didesnės. Dalis tyrėjų mano, kad, po operacijos praėjus 2–3 mėn., PSA sumažėjimas žemiau 0,01 ng/ml yra geras chirurginio gydymo rezultatas.

Atlikdami tyrimą, ištyrėme ne tik PSA, bet ir kinetinį PSA eliminacijos iš kraujo rodiklį ir įvertinome jo įtaką BCR atsirasti. PSA mažėjimo greitis apskaičiuotas PSA skilimo pusinės eliminacijos laiku (PL) (4 lentelė). Priešoperacinio PSA mažėjimo greitis iki 1 mėn. po operacijos tarp DRG ir MRG buvo panašus. Lyginant jį tarp grupių intervale nuo vieno iki trijų mėnesių po operacijos, pastebėtas statistiškai reikšmingas skirtumas. PSA vertės ir toliau mažėjo MR grupėje, o DR grupėje išryškėjo PSA mažėjimo sulėtėjimas arba jo didėjimas po buvusio mažėjimo (neigiamos PL vertės 4 lentelėje rodo PSA augimą po buvusio mažėjimo).

4.4. ePSA koncepcijos įvedimas į pooperacinės stebėsenos planą

Žinoma, kad PL atsiranda specifinių matematinių netikslumų, kai PSA didėjimo arba mažėjimo kreivė palaiapsniui darosi plokščia arba kai keičiasi jos kryptis (to paties paciento PSA mažėjimas virsta augančiais PSA per palyginti trumpą laiką). Todėl, norėdami tiksliau įvertinti pooperacinę PSA dinamiką ir jos ryšį su BCR abiejose rizikos grupėse, panaudojome ePSA. ePSA indeksas nurodo PSA pokyčio per dieną procentinę dalį. Teigiamos ePSA vertės rodo PSA padidėjimą, o neigiamos vertės atspindi PSA mažėjimą. Mūsų apskaičiuota ePSA reikšmė intervale nuo vieno iki trijų mėnesių MRG buvo $-2,8 + 1,54 \% d^{-1}$ (ribos nuo $-0,35 \% d^{-1}$ iki $+0,35 \% d^{-1}$, mediana $-3,19 \% d^{-1}$), o DRG $+2,9 + 0,30 \% d^{-1}$ (ribos nuo $-0,17 \% d^{-1}$ iki $+0,06 \% d^{-1}$, mediana $-3,48 \% d^{-1}$). Taigi, stebint DRG ligonius vieno–trijų mėnesių intervale, nustatyta, kad iki tol mažėjęs PSA pradeda didėti, arba pastebimas PSA mažėjimo sulėtėjimas (3.2.A, 3.2.B pav., 4 lentelė). Pasirinkus ePSA ribinį lygį BCR prognozuoti $-2,0 \% d^{-1}$, gauta ROC kreivė su $AUC = 0,85$ (95 % PI, 0,76–0,94) (3.2.C pav.).

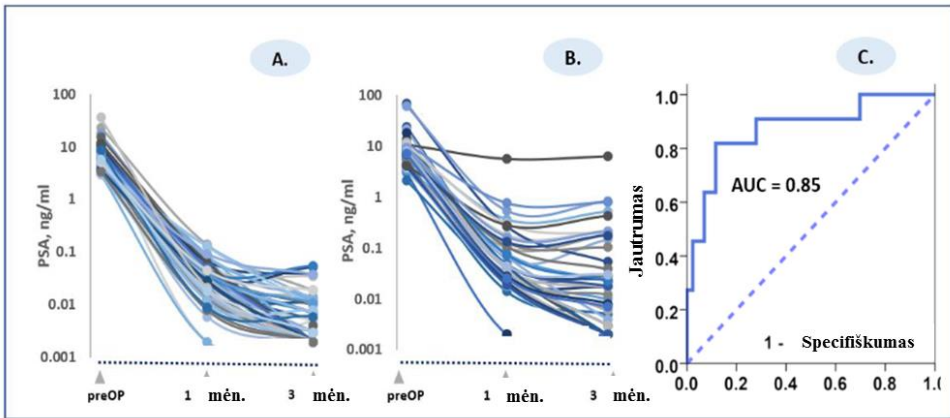


3.1 pav. Pooperacinių ligonių Kaplano ir Mejerio išgyvenamumo kreivės, nesant biocheminio atkryčio, atsižvelgiant į rizikos grupę (A), stadiją (B), Gleasono balą (C) ir operacinį metodą (D) (statistiškai reikšmingo skirtumo tarp pacientų, kuriems atlikta ARP, ir pacientų, kuriems atlikta LRP, nerasta ($p = 0,33$))

4 lentelė. PSA atsakas į radikaliąją prostatektomiją mažos ir didelės rizikos pacientų grupėse

Maža rizika			
	Iki operacijos	Mėnuo po operacijos	Trys mėnesiai po operacijos
PSA, ng/ml			
Vidurkis	7,19±5,038	0,04±0,031	0,01±0,011
Intervalas	3,03–36,00	0,0*–0,14	0,0*–0,055
Mediana	5,80	0,033	0,003
Pusėjimo laikas, dienos			
Vidurkis	n. a.	4,06±0,661	34,26±65,143
Intervalas	n. a.	2,79–6,62	–282,67–282,75
Mediana	n. a.	4,02	31,32
Didelė rizika			
	Iki operacijos	Mėnuo po operacijos	Trys mėnesiai po operacijos
PSA, ng/ml			
Vidurkis	10,84±12,886	0,23±0,858	0,27±1,015
Intervalas	2,15–67,71	0,0*–5,58	0,0*–6,32
Mediana	7,4	0,044	0,018
Pusėjimo laikas, dienos			
Vidurkis	n. a.	5,24±4,933	–35,34±329,773
Intervalas	n. a.	2,17–35,53	–1706,13–606,10
Mediana	n. a.	4,17	28,77

*Jeigu PSA reikšmė mažesnė negu 0,002 ng/ml (žemiausia prietaiso matavimo jautrumo riba), ji vertinta kaip 0,0 ng/ml.



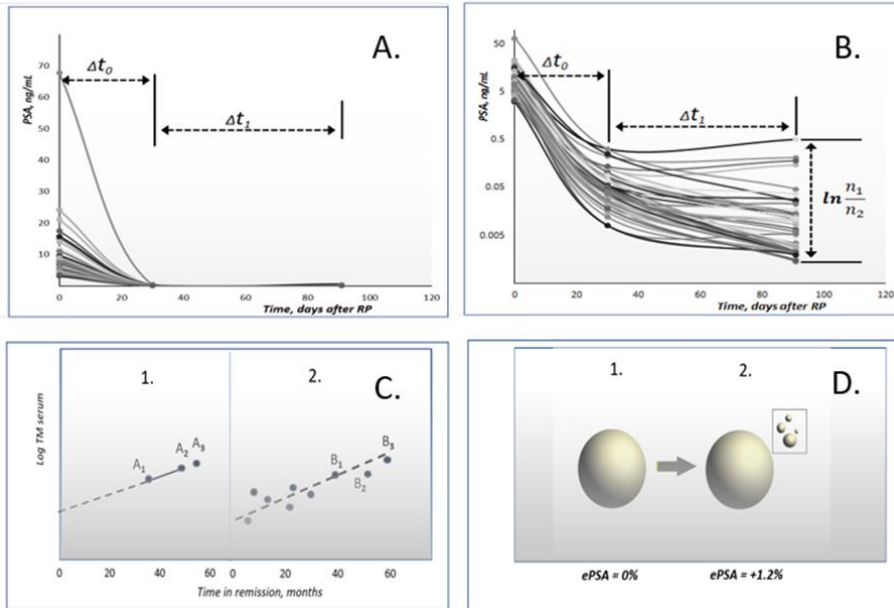
3.2 pav. Individualus PSA atsakas pašalinus naviką

„A“ – MRG ligonių duomenys; „B“ – DRG ligonių duomenys; „C“ – ROC kreivė BCR prognozei įvertinti. Sutrumpinimai: PreOp – ikioperacinės vertės; 1 mėn., 3 mėn. – PSA reikšmės 1 ir 3 mėn. laikotarpiu po operacijos.

4.5. ePSA panaudojimo praktinės galimybės. Tinklalapis ePSA apskaičiuoti

Analizuodami ePSA dinamiką, pastebėjome keletą aplinkybių, kurios gali būti naudingos gydytojui praktikui, stebinčiam pooperacinę ligos eigą. PSA sumažėjimas žemiau 0,1 ng/ml, praėjus 8–12 sav. po RP operacijos, yra svarbus radikalumo kriterijus (3.3.A pav). Tačiau skirtingomis technologijomis išmatuotos PSA reikšmės pooperaciniu laikotarpiu gali skirtis. Taip pat nežinosime, ar po 8–12 sav. išmatuota PSA reikšmė nėra PSA didėjimo po buvusio mažėjimo pradžia (jeigu PSA nėra 0,0 ng/ml). Ištobulėjus šiuolaikiniams PSA nustatymo metodams, kai naudojamos ultrajautrios technologijos, pooperacinę PSA kritimą galima stebėti kiek kitaip (3.3.A pav.) – logaritminėje skalėje (3.3.B pav.). Akivaizdu, kad PSA kritimo sulėtėjimo ar po mažėjimo atsiradusio augimo pastebėti be „padidinamojo stiklo“, t. y. nesulogarithmavus PSA verčių, kaip pavaizduota 3.3.B pav., neįmanoma. Tačiau tokius PSA pokyčius parodo ePSA. Remiantis ePSA, galima prognozuoti, kada PSA pasieks vieną ar kitą reikšmę (3.3 pav.). Tai svarbu planuojant pooperacinę ST, ADT.

Viena iš praktinių disertacijos verčių – sukurtas tinklalapis (www.epsa.info), kuriame pagal dvi PSA reikšmes galima apskaičiuoti ePSA ir laiką, kada PSA bus 0,2 ir 0,5 ng/ml (svarbu planuojant ST po RP).



Pavyzdys, iliustruojantis, kaip esant tai pačiai PSA vertei (0,18 ng/ml) gali keistis stebėjimo taktika, priklausomai nuo kartu nustatomo pagalbinio ePSA rodiklio.	Papildoma ePSA rodiklio informacija, kuri yra gaunama vertinant paprastą PSA testą, gali būti svarbi tolesniems sprendimams. Norint sužinoti, kada PSA pasieks kritinę vertę, galima pridėti ePSA vertę prie turimos PSA reikšmės (pvz., $0,18+0,01=0,19$ rodo, jog 0,19 ng/ml PSA bus jau kitą dieną arba 0,20 bus po dviejų dienų). $ePSA 1\% = 0,01$.	Dabartinė taktika remiasi vien tik kritine BCR riba = 0,20 ng/ml. Kartais chirurgas intuityviai atsižvelgia į PSA eigos dinamiką.
Tik pavienis PSA matavimas, lygus 0,18 ng/ml.	Duomenų apie ligos dinamiką nėra, vertinama tik absoliuti PSA reikšmė.	Dabartinė taktika ligoniui, kurio PSA yra žemiau 0,20 ng/ml, numato atlikti pakartotiną PSA tyrimą po 1 mėn., 3 mėn., po 6 mėn. arba po metų, priklausomai nuo to, kiek žemiau 0,20 ng/ml yra PSA.
PSA = 0,18 ng/ml, plus ePSA = +1% („agresyvus, progresuojantis navikas“).	PSA tikriausiai per keletą dienų viršys kritinę BCR ribą 0,20 ng/ml. Vertėtų atlikti pakartotiną PSA tyrimą po savaitės, o ne po 3 mėn.	
PSA = 0,18 ng/ml, plus ePSA = -0,03% („stabili eiga“).	PSA vertė turėtų išlikti nepakitusi ir po 3 mėn.	

3.3 pav. Matematiniai ePSA skaičiavimo parametrai pagal du ir daugiau PSA taškų bei rodiklio interpretavimo gairės

4.6. Kraujo imuninių ląstelių populiacijų sudėties pokyčiai kaip atsakas į naviko pašalinimą, lyginant tarpusavyje PV rizikos grupes

Pagrindinių imuninių ląstelių populiacijų sudėtis nekito taip smarkiai, kaip PSA (3.4 pav.). RP poveikis imuninių ląstelių populiacijų sudėčiai pavaizduotas 5 ir 6 lentelėse. Naviko pašalinimas sukeldavo T ląstelių skaičiaus (CD3+) padidėjimą ($p < 0,001$) MR grupės ligoniams, tačiau analogiško poveikio nebuvo pastebėta analizuojant operuotą DR grupės

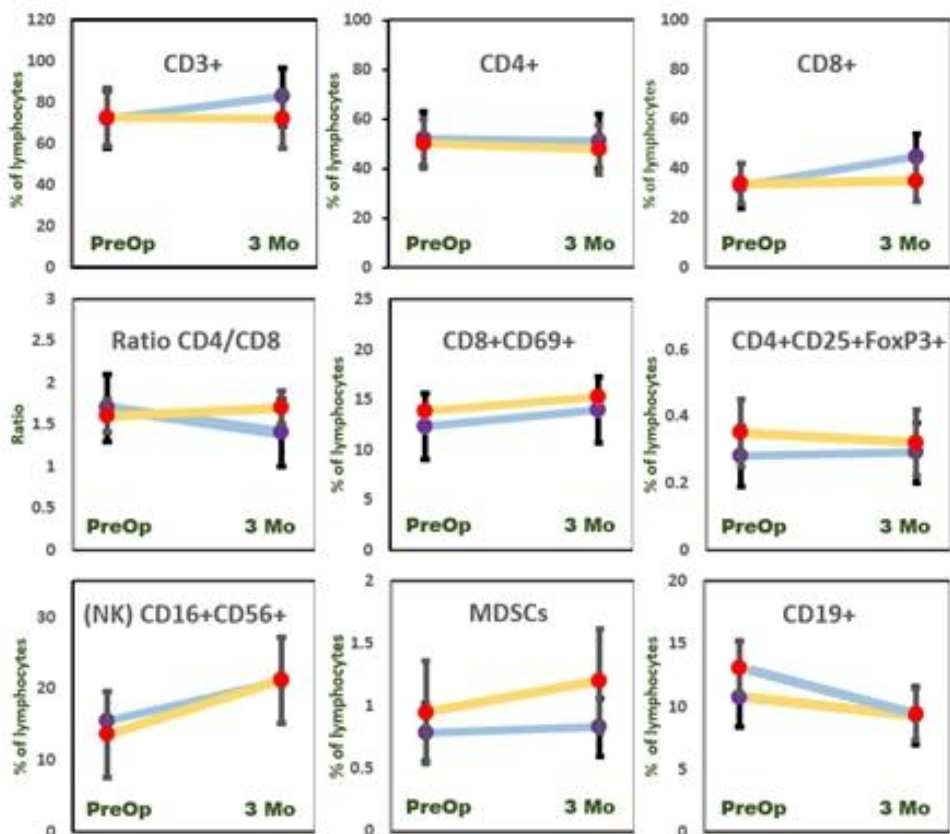
ligonių duomenis ($p = 0,11$). Minėtas T ląstelių skaičiaus padidėjimas buvo sąlygotas CD8+ subpopuliacijos ir nebuvo veikiamas kokių nors CD4+ subpopuliacijos pokyčių. Pooperacinis CD8+ subpopuliacijos padidėjimas nulėmė reikšmingą CD4/CD8 santykio sumažėjimą MR grupėje. DR grupėje statistiškai reikšmingo CD8+ kiekio ir CD4/CD8 santykio kitimų negauta. Citotoksinių T ląstelių CD8+69+ procentas ir absoliutieji skaičiai didėjo tiek MR grupėje ($p < 0,001$), tiek ir DR grupėje ($p < 0,001$) maždaug vienodai.

Naviko pašalinimas neturėjo įtakos Treg ląstelių (CD4 + CD25 + FoxP3+) skaičiaus pokyčiams nei vienoje iš ištirtų grupių. Vis dėlto pastebėtas ženklus NK ląstelių (CD3-CD16+CD56+) atsigavimas po operacijos, atliktos MRG ($p > 0,05$), bet ne DRG ($p = 0,24$) ligoniams. Pooperacinis supresinių MDSC ląstelių skaičiaus padidėjimas buvo nustatytas tik DR grupėje ($p < 0,05$).

4.7. Kraujo imuninių ląstelių populiacijų sudėties pokyčiai kaip atsakas į naviko pašalinimą, lyginant ARP su LRP

Klinikiniai patologiniai pacientų, kuriems atlikta LRP, ir pacientų, kuriems atlikta ARP, grupių duomenys pavaizduoti 7 lentelėje. Pagal klinikinius patologinius duomenis šios grupės statistiškai reikšmingai nesiskyrė.

Palyginus abu operacinius metodus, išryškėjo imunitetą tausojantis LRP metodo pranašumas. Skirtumų pastebėta analizuojant supresines MDSC ląsteles, kurių skaičius reikšmingai padidėdavo naudojant ARP operacinę techniką (5 lentelė). Minėtini ir CD19+ limfocitai, kurių ikioperacinis lygmuo būdavo dažniau padidėjęs DR grupėje ir statistiškai reikšmingai koreguodavosi, taikant LRP. Be to, po operacijos CD3+ ir CD8+ (CTL) ląstelių statistiškai reikšmingai padaugėjo pacientų, kuriems atlikta LRP, grupėje, o pacientų, kuriems atlikta ARP, grupėje šių ląstelių skaičius nekito. NK ląstelių skaičiaus padidėjimas pooperaciniu laikotarpiu buvo maždaug vienodas operuojant abiem metodais.



3.4 pav. *Prostatektomijos sukeltas ISL populiacijų procentinis pokytis*

MRG (mėlynos linijos) ir DRG (geltonos linijos) pacientai buvo tiriami iki operacijos (PreOp) ir praėjus 3 mėn. po operacijos (3 Mo). Intervalai nurodo standartinę vidutinės reikšmės paklaidą. Visos vertės apskaičiuojamos kaip procentinė dalis visų limfocitų, išskyrus CD4/CD8 santykį.

5 lentelė. Imunofenotipo atsako į radikaliąją prostatektomiją palyginimas, operaciją atliekant atviruoju arba laparoskopiniu metodu

Atvirosi radikaliaji prostatektomija				
Imuninis kriterijus	Iki operacijos (ląst/μl) Mediana (intervalas)	Trys mėnesiai po operacijos (ląst/μl) Mediana (intervalas)	p reikšmė	Pokytis
CD3+	1280 (878–2086)	1538 (924–1956)	0,84	≈
CD4+	826 (549–1400)	839 (630–1162)	0,72	≈
CD8+	554 (298–928)	711 (423–958)	0,15	≈
Santykis CD4+/CD8+	1,7 (1,2–2,4)	1,5 (0,8–2,0)	0,07	≈
CD8+CD69+	169 (92–347)	198 (159–261)	0,26	≈
Santykis CD4+/CD8+CD69+	4,5 (2,9–6,9)	4,3 (3,0–7,0)	0,16	≈
CD4+CD25+FoxP3+	3,4 (2,1–6,8)	3,5 (2,1–4,8)	0,30	≈
CD3-CD16+CD56+	205 (106–329)	294 (170–441)	0,03	↑
MDSC	11,1 (4,7–16,0)	14,8 (10,5–26,1)	<0,01	↑
CD19+	188 (124–299)	180,735 (147–272)	0,74	≈
Laparoskopinė radikaliaji prostatektomija				
Imuninis kriterijus	Iki operacijos (ląst/μl) Mediana (intervalas)	Trys mėnesiai po operacijos (ląst/μl) Mediana (intervalas)	p reikšmė	Pokytis
CD3+	1292 (964–1867)	1346 (1126–1984)	<0,05	↑
CD4+	780 (651–1282)	881 (696–1187)	0,46	≈
CD8+	538 (379–780)	576 (437–904)	<0,001	↑
Santykis CD4+/CD8+	1,8 (1,1–2,4)	1,7 (0,9–2,3)	0,10	≈
CD8+CD69+	209 (131–330)	216 (152–322)	0,15	≈
Santykis CD4+/CD8+CD69+	4,0 (2,7–6,1)	4,2 (3,0–6,3)	0,10	≈
CD4+CD25+FoxP3+	2,37 (1,1–4,6)	2,5 (1,2–4,1)	0,91	≈
CD3-CD16+CD56+	223 (117–353)	359 (199–502)	<0,001	↑
MDSC	11,0 (6,4–14,9)	11,2 (7,4–21,7)	0,16	≈
CD19+	187 (119–307)	185 (131–273)	0,50	≈

6 lentelė. Imunofenotipo atsako į radikaliąją prostatektomiją palyginimas, operaciją atliekant ligoiams, kuriems nustatyta maža arba didelė vėžio recidyvo rizika

Maža rizika				
Imuninis kriterijus	Iki operacijos (ląst/μl) Mediana (intervalas)	Trys mėnesiai po operacijos (ląst/μl) Mediana (intervalas)	p reikšmė	Pokytis
CD3+	1272 (930–1649)	1433 (1139–2000)	<0,001	↑
CD4+	779 (573–1207)	887 (710–1228)	0,15	≈
CD8+	503 (356–711)	692 (449–920)	<0,05	↑
Santykis CD4+/CD8+	1,8 (1,1–2,4)	1,5 (0,9–2,3)	<0,05	↓
CD8+CD69+	185 (114–305)	196 (152–278)	<0,001	↑
Santykis CD4+/CD8+CD69+	4,5 (2,9–6,9)	4,3 (3,0–7,0)	0,33	≈
CD4+CD25+FoxP3+	3,1 (1,6–5,6)	3,3 (1,8–5,5)	0,76	≈
CD3-CD16+CD56+	232 (113–360)	317 (176–484)	<0,05	↑
MDSC	11,9 (4,7–21,4)	12,1 (6,0–21,7)	0,12	≈
CD19+	206 (119–337)	189 (110–285)	0,07	≈
Didelė rizika				
Imuninis kriterijus	Iki operacijos (ląst/μl) Mediana (intervalas)	Trys mėnesiai po operacijos (ląst/μl) Mediana (intervalas)	p reikšmė	Pokytis
CD3+	1426 (967–2161)	1388 (1043–1852)	0,11	≈
CD4+	894 (587–1425)	803 (683–1074)	0,42	≈
CD8+	571 (342–925)	594 (405–920)	0,24	≈
Santykis CD4+/CD8+	1,6 (1,2–2,4)	1,7 (1,0–2,1)	0,81	≈
CD8+CD69+	205 (120–373)	227 (156–308)	<0,001	↑
Santykis CD4+/CD8+CD69+	4,3 (3,0–7,1)	3,9 (2,8–6,4)	0,07	≈
CD4+CD25+FoxP3+	4,6 (2,1–7,3)	3,9 (2,4–7,1)	0,11	≈
CD3-CD16+CD56+	211 (119–320)	328 (225–458)	0,14	≈
MDSC	12,4 (6,5–19,9)	16,2 (10,5–26,1)	<0,002	↑
CD19+	188 (124–299)	181 (147–272)	0,50	≈

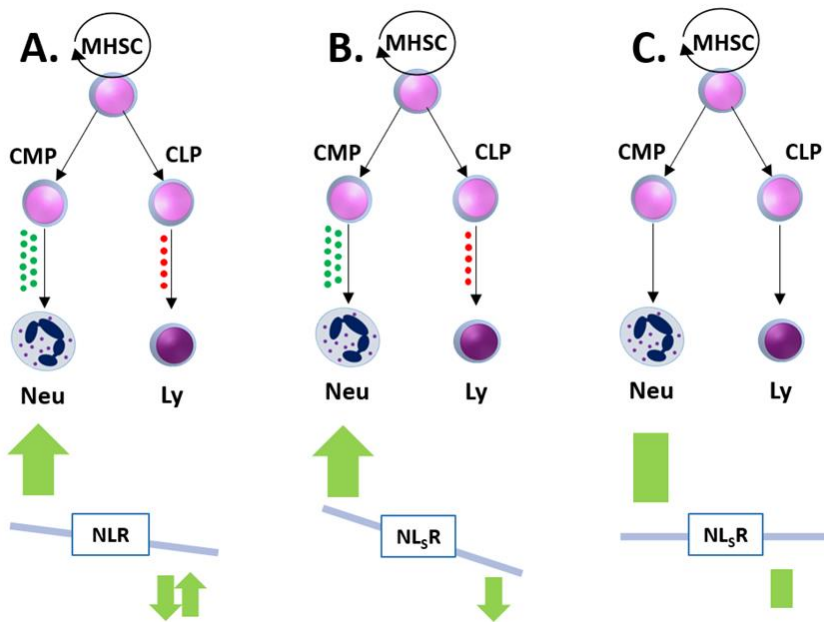
7 lentelė. Klinikiniai pataloginiai pacientų, kuriems atlikta LRP, ir pacientų, kuriems atlikta ARP, grupių duomenys

Dydis	Chirurginis metodas		Viso Pacientų skaičius n = 108 (100 %)	P reikšmė
	ARP Pacientų skaičius n = 45 (41,7 %)	LRP Pacientų skaičius n = 63 (58,3 %)		
Amžius (metais)	<61	17	22	0,89
	61–65	12	18	
	>65	16	23	
Priešoperacinis PSA (ng/mL)	<4	7	8	0,71
	4–10	30	43	
	>10	8	12	
Gleasono reikšmė	= 3+3	10	19	0,43
	= 3+4	28	39	
	≥4+3	7	5	
Chirurginis kraštas	Teigiamas	11	15	0,94
	Neigiamas	34	48	
Patologinė stadija	pT2	33	45	0,99
	pT3	12	18	
Limfadenektomija	Atlikta	10	8	0,29
	Neatlikta	35	55	

4.8. B limfocitų subpopuliacijos įvertinimo pranašumai interpretuojant klasikinį neutrofilų limfocitų santykį (NLR). Laparoskopinės prostatektomijos galimybės

Atlikto tyrimo rezultatai, susiję su CD19+ populiacija, leidžia detaliau pažvelgti į klasikinį NLR rodiklį, naudojamą onkologinių ligų prognozei vertinti. Daugėja publikacijų apie NLR santykio panaudojimą, vertinant nespecifinę uždegiminę reakciją sergant ir gydant onkologines ligas. Visose studijose rodiklio padidėjimas rodo nepalankią ligos eigą arba padidėjusią atkryčio ar metastatinio plitimo tikimybę. Iki šiol nenustatyta LRP reikšmė NLR santykiui, bet, M. B. Culp ir bendraautorių atlikto tyrimo duomenimis, sergant prostatos vėžiu, maždaug kas 10–12 ligoniui pasireiškia mažaprocentė B-limfocitų klonų proliferacija [262]. Ši proliferacija PV pacientams imituoja lėtinės B-limfocitų leukemijos charakteristikas – CD19+CD5+ subpopuliacijos didėjimą. Padidėjus B ląstelių skaičiui, kartu auga ir limfocitų skaičius, todėl NLR rodiklis sumažėja (3.5.A pav. palyginti su 3.5.B pav.). Taigi, sergant PV, prarandamas šio santykio informatyvumas. Vis dėlto šį santykį perskaiciavus ne pagal visą limfocitų

skaičių, o tik pagal „ne-B limfocitų“ (ne-CD19+) skaičių, jis tampa informatyvesnis. Šį santykį pavadino NLR. Toks klasikinio NLR išgryninimas NLR pavidaļu leidžia greitai pastebėti atvejus, kai LRP metodo taikymas demonstruoja imunitetą tausojantį efektą. Atliktas tyrimas atskleidė, kad, esant padidėjusiai CD19+ subpopuliacijai, LRP operacija efektyviau negu ARP sumažina CD19+ procentinę vertę pooperaciniu 1–3 mėn. laikotarpiu.



3.5 pav. Klasikinio neutrofilų ir limfocitų santykio (NLR) ribotumas, esant prostatos vėžiui (A), jo išgryninimas (B), įvedant CD19+ žymenį (NLR₅R) bei pooperacinės korekcijos (C) analizė (NLR₅R santykis nustatomas neutrofilų absoliutųjį skaičių padalijus iš ne-B limfocitų skaičiaus (ne-CD19+))

Sutrumpinimai: MHSC – multipotentinė hematopoetinė kamieninė ląstelė; CMP – bendras mieloidinis pirmtakas; CLP – bendras limfoidinis pirmtakas; Neu – neutrofilai; Ly – limfocitai; NLR – neutrofilų ir limfocitų santykis; NLR₅R – neutrofilų ir limfocitų subpopuliacijos santykis. Žaliais taškais pažymėti hematopoetiniai faktoriai, kuriuos gamina ne prostatos navikai, o raudonais taškais – prostatos navikų hematopoetiniai faktoriai, kurie specifiskai padidina B limfocitų populiaciją (monokloninė B-limfocitozė).

4.9. Koreliacinis ryšys tarp atskirų rodmenų

Sudarydami koreliacinę matricą tarp atskirų imunologinių, hematologinių ir PSA rodiklių, ieškojome patogenetinio ryšio tarp tyrime naudotų rodmenų (3.6 pav.). Nors nemažai rodiklių patenkino statistinio reikšmingumo kriterijų ($p < 0,05$, raudona spalva 3.6 pav.), vis dėlto tai vertintina kaip koreliacinio ryšio tarp atskirų parametrų nebuvimas arba labai silpnas koreliacinis ryšys. Didesnės Spearmano koreliacijos koeficiento reikšmės buvo matyti tik tada, kai buvo lyginami du rodikliai ir abiejuose buvo bent vienas identiškas dėmuo. Pavyzdžiui, CD4/CD8 santykis gerai koreliavo su CD4/CD8 FoxP3 – šiame pavyzdyje abiejų verčių sudėtinė dalis yra tas pat rodmuo CD4. Vien to pakanka, kad šis koreliacinis ryšys matematiniu požiūriu būtų bevertis. Matrica buvo sudaryta ieškant kitų koreliacinių ryšių, pavyzdžiui, ePSA ir CD19+. Tačiau tokiose kombinacijose reikšmingų dėsningumų nebuvo aptikta.

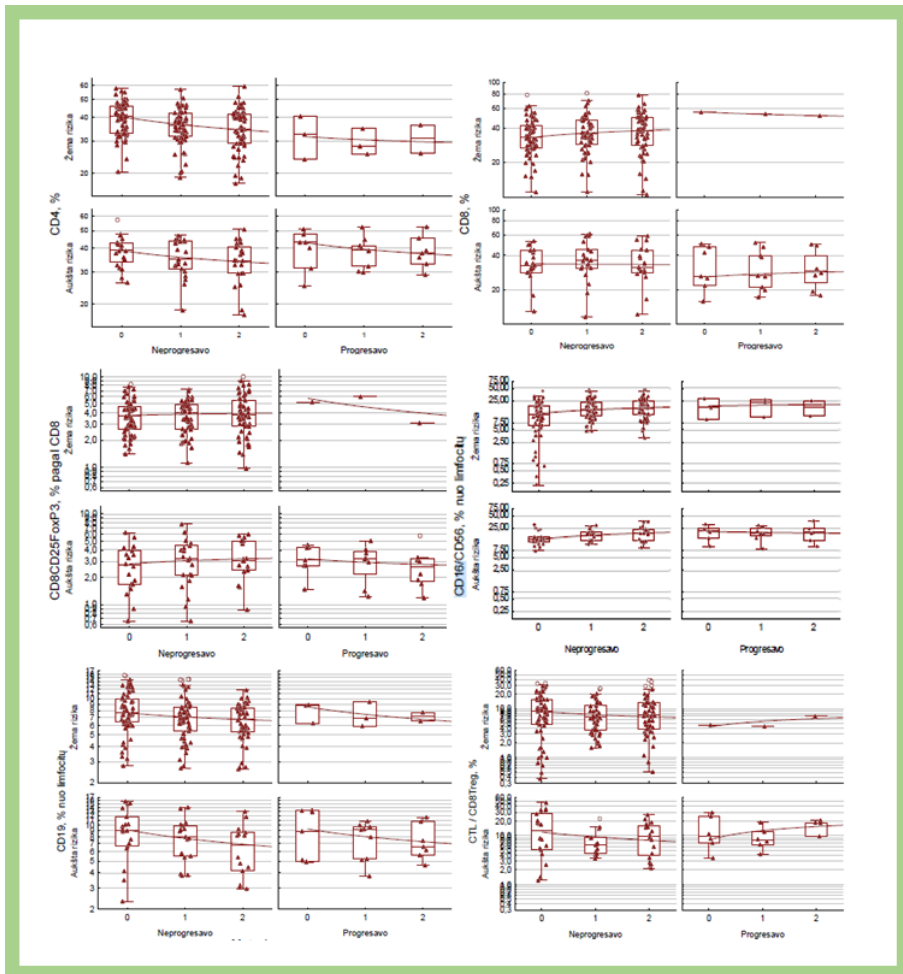
Rodiklis	Spearman koreliacijos koeficientai. Raudona spalva pažymėti koeficientai tenkina dviejų kintamųjų patikimo ryšio kriterijų ($p < 0.05$);												
	ePSA	33CDGranulocitai proc	CTLprocCD8	CD4/CTL	SANTYKIS	CD8FoxprocCD8	CD4/CD8Fox	cd16cd56procli mf	cd19procli mf	rawCD4proc	CD4/CD8	CD4Fox/CD8	
ePSA	1,000000	0,273523	0,066878	-0,029045	0,082429	-0,125310	0,017253	0,021632	0,140430	-0,031938	0,024074	0,028360	
33CDGranulocitai proc	0,273523	1,000000	0,035755	-0,206152	-0,036366	0,009949	-0,129035	0,127875	-0,079551	-0,142097	-0,181843	-0,160779	
CD8-CTLproc.nuoCD8	0,066878	0,035755	1,000000	-0,534266	0,839632	-0,307535	0,426385	0,385667	0,335273	0,196922	0,343767	-0,061716	
CD4/CD8-CTL	-0,029045	-0,206152	-0,534266	1,000000	-0,397289	0,069055	0,321388	-0,248047	-0,038046	0,534800	0,536745	0,097631	
CD-8CTL/CD8FoxP3	0,082429	-0,036366	0,839632	-0,397289	1,000000	-0,691073	0,649751	0,369810	0,262169	0,202955	0,344728	0,017846	
CD8Foxproc.nuoCD8	-0,125310	0,009949	-0,307535	0,069055	-0,691073	1,000000	-0,748642	-0,193394	-0,121361	-0,141052	-0,216599	-0,046729	
CD4/CD8Fox	0,017253	-0,129035	0,426385	0,321388	0,649751	-0,748642	1,000000	0,192896	0,276107	0,622756	0,769971	0,085228	
cd16cd56proc.nuoLimfoc	0,021632	0,127875	0,385667	-0,248047	0,369810	-0,193394	0,192896	1,000000	-0,104157	-0,225052	0,078537	0,019422	
cd19proc.nuoLimf	0,140430	-0,079551	0,335273	-0,038046	0,262169	-0,121361	0,276107	-0,104157	1,000000	0,198113	0,305125	0,011235	
CD4proc	-0,031938	-0,142097	0,196922	0,534800	0,202955	-0,141052	0,622756	-0,225052	0,198113	1,000000	0,819212	0,076411	
CD4/CD8	0,024074	-0,181843	0,343767	0,536745	0,344728	-0,216599	0,769971	0,078537	0,305125	0,819212	1,000000	0,090567	
CD4Fox/CD8	0,028360	-0,160779	-0,061716	0,097631	0,017846	-0,046729	0,085228	0,019422	0,011235	0,076411	0,090567	1,000000	
CD4FoxProc.nuoLimf	-0,014421	-0,073519	-0,084314	0,174754	0,012343	-0,081566	0,126980	-0,162255	-0,059477	0,175338	0,122958	0,737002	
CD4FoxProc.nuoCD4	0,030976	-0,119006	-0,073552	0,187949	0,026857	-0,066068	0,146686	-0,114250	-0,048675	0,186077	0,167304	0,734420	
Granulocitai	0,033012	-0,097187	0,100095	-0,137436	0,025100	0,087452	-0,054794	0,071673	-0,045084	-0,008224	0,004406	-0,149476	
monocitai	0,027575	0,151225	0,091821	-0,100267	0,158417	-0,072329	0,032436	0,178557	-0,014006	0,056661	0,020074	0,084014	
CD33MonocMDSC%	0,215592	0,505047	0,109200	-0,124108	0,064776	-0,068357	0,003378	0,116423	-0,049314	-0,082349	-0,052833	-0,039340	

3.6 pav. Koreliacinė matrica, įvertinanti ryšį tarp pagrindinių tyrime naudotų rodmenų

4.10. Imunofenotipavimo duomenys, gauti derinant rizikos grupes su BCR atkryčiu

Šios analizės tikslas – įvertinti, ar imunofenotipo sudėties pokyčiai, pasireiškiantys anksti po operacijos (1–3 mėn.), gali padėti numatyti atkrytį, jeigu ligoniai bus lyginami pagal rizikos grupes. Pacientai, kurių pooperacinis PSA nenukrito žemiau 0,1 ng/ml arba kuriems nustatyti du nuoseklūs PSA koncentracijos padidėjimai daugiau kaip 0,2 ng/ml, priskirti „progresavusių“ grupei. Kiti pacientai priskirti „neprogresavusiems“.

Tiriamieji pacientai suskirstyti į keturias kategorijas: a) DRG ir „neprogresavę“, b) DRG ir „progresavę“, c) MRG ir „progresavę“, d) MRG ir „neprogresavę“. Kelių ištirtų fenotipų pavyzdžiai parodyti 3.7 pav. Šiose diagramose skaičius „0“ rodo ikioperacinę reikšmę, „1“ atspindi imunologinį rodiklį, praėjus mėnesiui po operacijos, „2“ rodo rodiklio reikšmę, nustatytą praėjus 3 mėn. po operacijos. Akivaizdu, kad analizės atlikimo momentu, praėjus 32 mėn. po operacijos (mediana), statistiškai reikšmingų skirtumų tarp rodiklių nepavyksta nustatyti, nes „progresavusių“ pacientų yra per mažai. Ypač nedideli jų skaičiai yra MR grupėje. Vis dėlto ši analizė gali tapti reikšminga ilgiau stebint ligonius. Tyrimas bus tęsiamas.

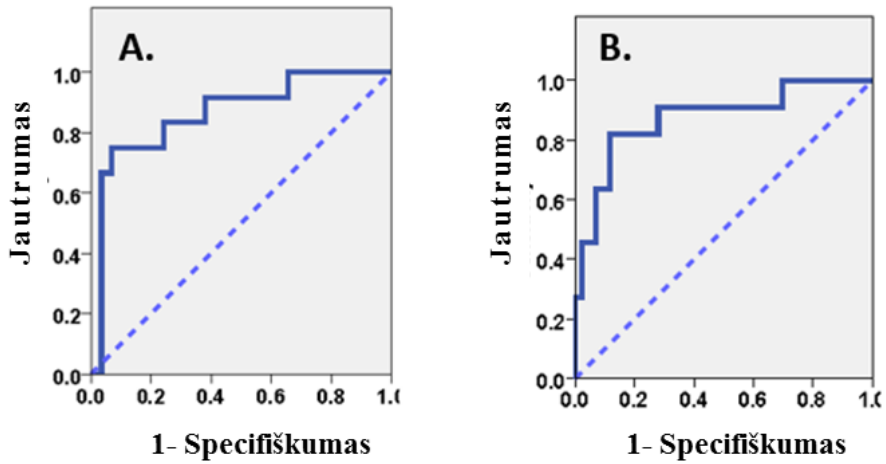


3.7 pav. Tarpiniai, tolesnės stebėsenos reikalaujantys imunofenotipo sudėties pokyčių rezultatai, praėjus 32 mėn. (mediana) po operacijos

4.11. Rodmenų prognostinės vertės analizė, derinant ePSA su imunofenotipavimo duomenimis

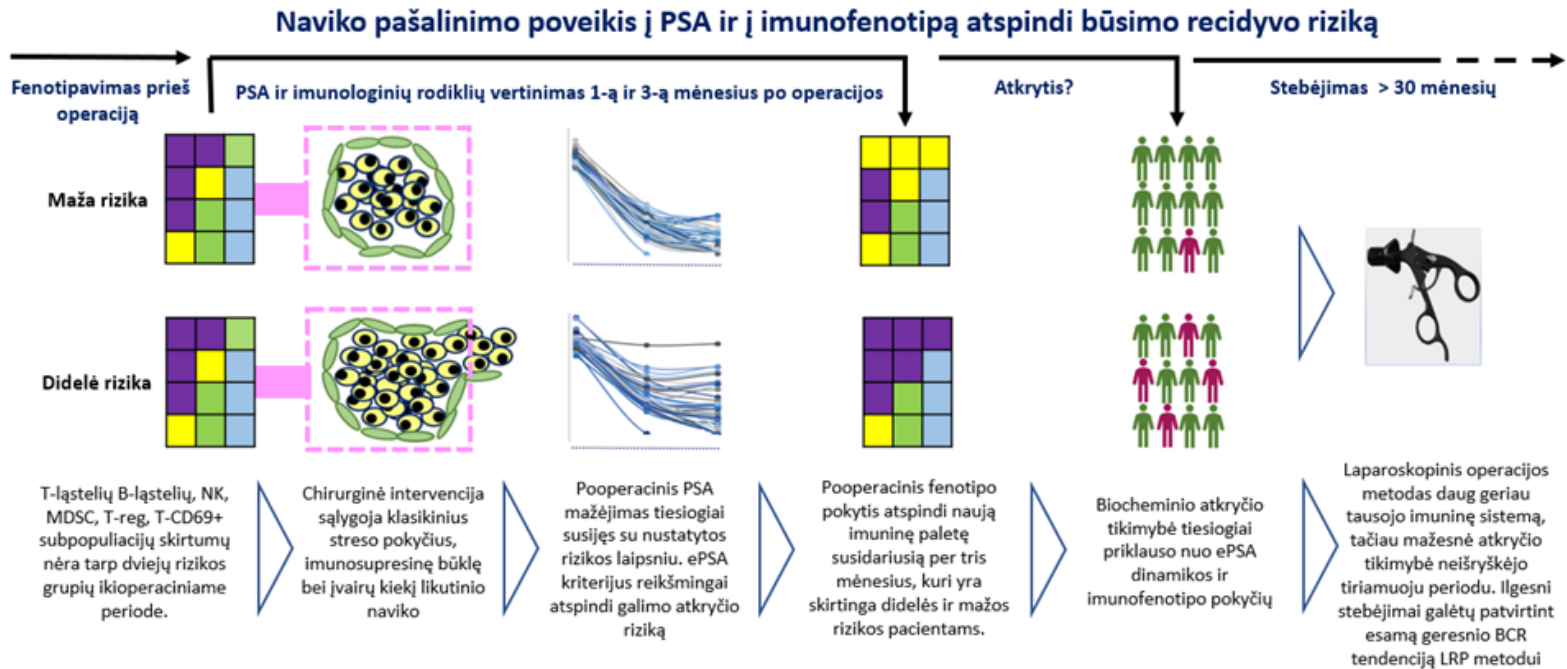
Tiek ePSA, tiek ir tam tikri imunofenotipo pokyčiai galėjo būti nepriklausomi BCR prognostiniai kriterijai, todėl papildomai šiame darbe vertinti ir kombinuoti kriterijai. Atlikus ROC analizę, pastebėta, kad, derinant kriterijus, geriausių rezultatų pasiekama naudojant CD4/CD8+CD69+ ir CD4+Fox3P+ ikioperacines vertes kartu su ePSA. Derinant ikioperacinį CD4+Fox3P+ su ePSA, galima prognozuoti ARP BCR su AUC-0,87 (slenkstinė reikšmė – 0,82, specifiskumas – 83 %, jautrumas – 76 %) (3.8.A pav.), o, derinant ikioperacinį CD4/CD8+CD69+

su ePSA, galima prognozuoti LRP BCR su AUC-0,87 (slenkstinė reikšmė – 0,72, specifiškumas – 82 %, jautrumas – 88 %) (3.8.B pav.).



3.8 pav. *Imunofenotipo ir ePSA derinimas didina prognostinę BCR vertę (ROC kreivės, nustatytos derinant ikioperacinį CD4+Fox3P+ su ePSA (A) ir CD4/CD8+CD69+ su ePSA (B)).*

4.12. Grafinė pagrindinių rezultatų santrauka



5. DISKUSIJA

Naviko pašalinimas buvo susijęs su dideliu PSA rodmenis kritimu ir palyginti nedideliais periferinių imuninių ląstelių pokyčiais, nustatomais praėjus vienam ar trimis mėnesiams po operacijos. Pooperacinio PSA mažėjimo greičio reikšmės (ePSA) nepasižymėjo tokiu dideliu svyravimu, koks buvo nustatytas pačioms PSA vertėms (variacijos koeficientas buvo vidutiniškai 10,2 karto mažesnis, ePSA palyginus su PSA). Chirurginis naviko pašalinimas lėmė prostatos audinio ir gretimų infiltruotų audinių, galinčių gaminti PSA, pašalinimą. Būtent ši aplinkybė (PSA ir kitų su naviku susijusių faktorių koncentracijos kritimas) lėmė ir imuninės sistemos pooperacinio tausojimo lygmenį.

Įprastai PV vystosi lėtai, tačiau tai vienas iš nedaugelio piktybinių navikų, galinčių recidyvuoti praėjus daugeliui metų po operacijos [177]. Atlikus operaciją, ketverių metų laikotarpiu PV recidyvuoja net ir MRG pacientams (~25 proc. pacientų) [178]. Bendra 10 metų BCR išsivystymo tikimybė, esant vidutinei PV rizikai, siekia 32 proc. [179]. Pastaruoju metu DR prostatos vėžio atvejų visame pasaulyje daugėja (pavyzdžiui, JAV išaugo daugiau negu 20 proc. visų diagnozuojamų PV atvejų), taip pat šioje populiacijoje išaugo RP operacijų skaičius [180].

PV šalinimo operacija turi neigiamą sisteminį poveikį, kuris galimai padeda navikui plisti. Chirurginė procedūra padidina naviko ląstelių išsiskyrimą į kraujotaką ir lemia adhezijos molekulių, esančių cirkuliacijoje ir audiniuose, pokyčius. Dėl šių priežasčių didėja mikrometastazavimo rizika pooperaciniu laikotarpiu. Chirurgija taip pat slopina priešvėžinį imunitetą. Tai leidžia vėžinėms ląstelėms geriau išgyventi kraujo cirkuliacijoje ir audiniuose, į kuriuos jos patenka iš cirkuliacijos ar per limfą [181]. Šie operacijos sukelti imunologinio sutrikimo mechanizmai yra mažai tirti. Manoma, kad egzistuoja vadinamasis *lydimasis imunitetas* (angl. *concomittant immunity*), pasireiškiantis pirminio naviko augimo metu [182]. Lydimasis imunitetas yra unikalus reiškinys, nes jo sukiamas imuninis atsakas yra nepakankamai stiprus, kad sunaikintų pirminį naviką, bet gali užkirsti kelią antriam navikui progresuoti ir plisti. Todėl pirminio naviko chirurginis pašalinimas gali išprovokuoti mikrometastazių, kurios prieš chirurginę intervenciją buvo neaktyvios, proliferaciją. Tyrimais nustatyta, kad daugiau kaip 70 proc. PV sergančių pacientų prieš operaciją turi mikrometastazių kaulų čiulpuose, nepriklausomai nuo ligos stadijos, Gleasono balo, PSA ar bet kokių kitų klinikinių sisteminės ligos požymių [183]. Kokią įtaką šioms mikrometastazėms daro operacija ir anestezija,

nebuvo tyrinėta. Gali būti, kad, pašalinus pirminį PV, IS susidoroja su šiomis mikrometastazėmis ir PSA sumažėja iki neišmatuojamo dydžio, o galbūt dalis mikrometastazių pereina į neaktyvią būseną arba didėja, sukeldamos BCR.

Chirurginis naviko pašalinimas taip pat eliminuoja visas imunines ląsteles, kurios buvo infiltravusios navikinį audinį. Šios naviką infiltruojančios ISL ikioperaciniu laikotarpiu pasižymi abipusiu specifiniu poveikiu sisteminiam imunitetui ir metastazavimui [182]. Vadinasi, naviko pašalinimas turėtų sutrikdyti sisteminio ir lokalaus imuniteto sąveiką. Ar šis sutrikdymas keičia imuninių ląstelių populiacijų sudėtį? Iš literatūros žinoma, kad operacijos nepageidautinas poveikis IS yra: T limfocitų, B limfocitų, NK ląstelių ir HLA-DR monocitų skaičiaus sumažėjimas [184, 185]. Laparoskopinė chirurgija, atrodytų, labiau tausoja IS, nes mažesnis operacinis stresas ir mažesni uždegimą provokuojantys veiksniai laparoskopinės intervencijos atveju gali sumažinti pooperacinio naviko recidyvo ir metastazavimo riziką [186].

Atokieji LRP ir ARP gydymo onkologiniai rezultatai bei komplikacijų skaičius yra panašūs [187], tačiau imunologinių pokyčių, sukeltų gydant PV šiais dviem metodais, lyginamoji charakteristika niekuomet nebuvo atlikta. PV išskirtinumas – itin patogus, organui specifinis vėžio žymuo kraujyje yra PSA. Skirtingai nuo kitų naviko žymenų, PSA greitai mažėja pooperaciniu laikotarpiu, o per vieną ar tris mėnesius nusistovi galutinė jo koncentracija (ji gali būti ir neišmatuojama). Ankstyvuojų pooperaciniu laikotarpiu į kraujo cirkuliaciją vyksta antinksčių hormonų ir citokinų išmetimas, todėl, atliekant tyrimą, imuninių ląstelių populiacijų sudėtis vertinta ne iš karto atlikus operaciją, o po jos praėjus 1–3 mėn.

Žinoma, kad daugelis vėžio formų, įskaitant PV, sukelia įvairių imuninių supresinių ląstelių aktyvaciją. Vienos iš jų – mažai subrendusios mieloidinės kilmės ląstelės, dar vadinamos MDSC. Jų kiekis ir imunitetą slopinantis aktyvumas įprastai padidėja navikui augant [188–191]. MDSC daro įtaką PV ir cirkuliuojančių monocitų sąveikai. Monocitai, paimti iš prostatos vėžiu sergančių pacientų kraujo, gali visiškai subręsti *in vitro* iki dendritinių ląstelių tik po to, kai atliekama radikali operacija [189]. MDSC skaičiaus padidėjimas ikioperaciniu laikotarpiu atliktame tyrime buvo specifinis ir skiriamasis imunosupresijos rodiklis, būdingas PV, bet ne kolorektaliniam vėžiui. Išsamesnių tyrimų, analizuojančių MDSC atsaką į RP, priklausomai nuo PV ligonių rizikos grupių, iki šiol nėra. Detalesnė literatūros duomenų analizė, susijusi su MDSC ir kitais imunofenotipo persitvarkymais, pateikta 8 lentelėje.

Atliekant tyrimą, daryta prielaida, kad po RP turėtų susidaryti nauja

pusiausvyra tarp sisteminio imuniteto ir likutinės minimalios ligos. Nustatyta, kad MRG ligoniams RP poveikis organizmui gali būti charakterizuojamas specifiniu imuniniu „parašu“ (CD8+, CD8 + CD69+, CD16 + CD56+ padidėjimas ir nepakitęs MDSC ląstelių skaičius). DRG ligoniams nustatytas nepakankamo imuninio atsako „parašas“ (tik CD8 + CD69+ ir supresinių ląstelių MDSC padidėjimas). Taip pat nustatyta, kad po ARP operacijos labiau negu po LRP daugėja nepageidaujamų supresinių MDSC ląstelių kraujyje.

8 lentelė. Imunologinių ir bendro organizmo reaktyvumo komponentų pokyčiai, esant imunosupresijai, navikiniam augimui, operaciniam gydymui (LO ar AO) bei PV chirurginiam gydymui

Imuniteto arba uždegiminės reakcijos rodiklis	Imunosupresija arba onkologinė liga su bloga prognoze	Literatūra	Pokyčiai PV metu kraujyje arba navike	Literatūra	Operacinis stresas: AO procedūros palyginus su LO sukelti pokyčiai (ne vien prostatos chirurgija) AO ↔ LO	Literatūra	Pokyčiai pašalinus piktybinį naviką	Literatūra
T reg CD4+CD25+FoxP3+	↑	194, 195, 196	↑	192, 193, 198	AO ↑↑→LO↑	199	↓	200
T reg CD8+CD28–FoxP3	↑	195, 202, 203	↑	211, 197, 198	AO↑	201	↓	200
NK (CD56dimCD16–)	(↓)	204, 206, 207	↓	209, 212	AO↓↓↔LO↓	213, 214	(↓↑)	216
NK (CD56brightCD16+/–)	↑	205	↓	208, 210	----	----		
T (CD3) ir B (CD19) limfocitai	(↓)							
CD4+/CD 8+ santykis	↓	219, 220, 221	↓	222 ^a	AO↓↔LO(N)	216	(↓↑)	216
CD4+8+ „dvigubai teigiama“	↑↑	208	↑↑	208				
CD3+CD4–CD8–	↑↑	207	-	-				
CD8+CD69+	↓		↓	65				
MDSC/CD33/Gr	↑	218		217				
MDSC/CD33/Mo	↑	218		217				
CRB	(↑↑)				AO ↑↑↔LO↑	223, 224		
IL-6, IL-8, IL-10, TNF	↑	137	↑	217	AO ↑↑↔LO↓	223, 215, 137	↓PV	225
RDW%	↑	228, 229, 230, 231	↑	100, 232	AO ↑↑↔LO	233, 89		
MPV	(↓↑)							
GR/LY arba NEU/LY	↑	78, 227, 228	↑	108, 226				
PLT/LY	↑	81, 227, 228	↑	81				

Pastabos. ↑ – padidėjimas; ↓ – sumažėjimas; (↓↑) – gali būti tiek padidėjimas, tiek ir sumažėjimas; ↑↑ – ženklus padidėjimas; (↓) – sumažėjimas ne visais atvejais; a) pritaikius radioterapiją, rodiklis pradėjo mažėti.

Greitas PSA pasišalinimas iš kraujo reiškė, kad smarkiai sumažėjo lėtinis su naviku susijusių antigenų (kartu ir naviko produktų) poveikis IS.

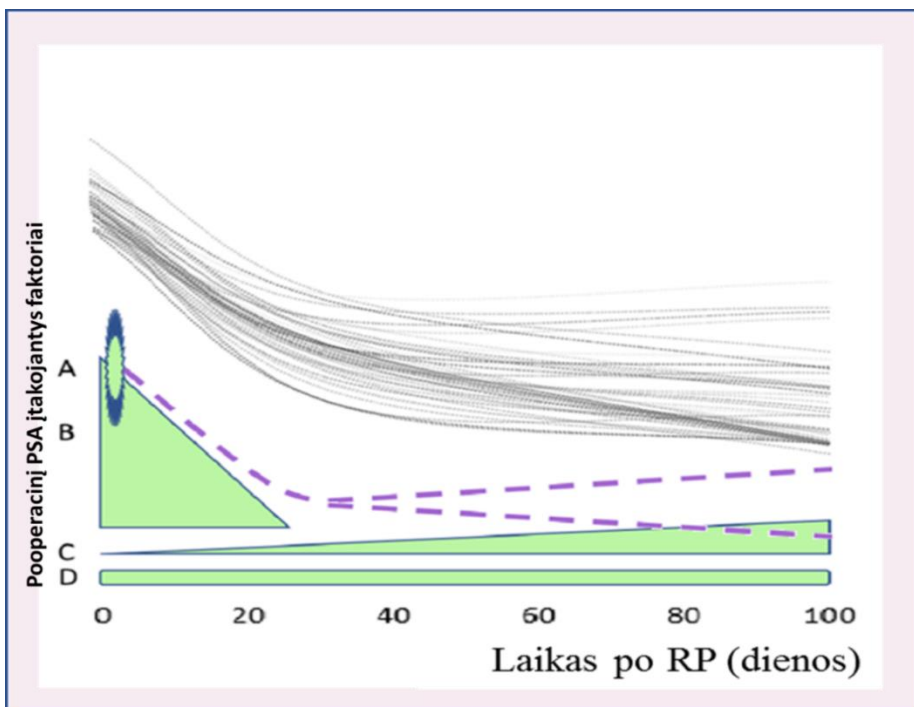
Atliekant tyrimą, analizuotas IS persitvarkymas, praėjus vienam ir trimis mėnesiams po operacijos. Šio, palyginti vėlyvo, laikotarpio pasirinkimą lėmė siekis išvengti ankstyvo pooperacinio streso stimulo (stresinių hormonų išmetimo, pooperacinės reaktyvinės leukocitozės ir citokinų kiekio svyravimų kraujyje, kurie pasireiškia pirmomis savaitėmis po chirurginės intervencijos). PV imunogeniškumas [234] suteikia unikalią galimybę išsaugoti pooperacinį imuninį atsaką, o gal net sustiprinti pooperacinę imunologinę priežiūrą (angl. *immunosurveillance*) funkciją. Tačiau PV pašalinimo atveju reikėtų papildomai įvertinti imunologinius biožymenis, rodančius imuninį pertvarkymą: 1) transformuojantį augimo faktorių β 1, kuris dalyvauja ląsteliniame imuniniame atsake ir yra susijęs su BCR po RP; 2) PD-1/PD-L1, kurie svarbūs priešoperaciniu laikotarpiu skiriant pembrolizumabą, atezolizumabą su tocilizumabu, kol kas tik klinikiniuose tyrimuose; 3) neutrofilų limfocitų santykį, kurio padidėjimas rodo nepalankią ligos eigą arba padidėjusią atkryčio ar metastatinio plitimo tikimybę [235]. Minėtinas ir mūsų pasiūlytas neutrofilų ir limfocitų subpopuliacijos santykis (NLsR).

Atliekant tyrimą, lygintos pirminių PV sergančių pacientų ikioperacinės ir pooperacinės imunologinės būklės, suskirstant ligonius į dvi sąlygines grupes: MRG (įskaitant mažos ir vidutinės rizikos pacientus) ir DRG (įskaitant didelės ir labai didelės rizikos pacientus). Minėtina, kad RP sukėlė CD8⁺ procentinį ir absoliutų ląstelių skaičiaus padidėjimą MRG pacientams, o DRG šis fenomenas nepasireiškė. Nustatyta, kad, pašalinus naviką, išnyksta lėtinis antigeno poveikis priešnavikinėms CD8⁺ T ląstelėms, todėl pradeda gamintis funkciškai visavertės priešnavikinės atminties T ląstelės [236]. CD8⁺ atsigavimo nebuvimas tirtiems DRG ligoniams gali rodyti pooperacinio lėtinio antigeno poveikio tęstinumą. Netiesioginiu šio reiškinio įrodymu galėtų būti lėtesnis DRG pacientų PSA mažėjimas (kai kuriems ePSA 1–3 mėn. intervale tapo teigiamas, nes PSA skaičius, pradžioje mažėjęs, vėliau ėmė augti).

PSA negali būti tiesiogiai susijęs su visais naviko produkuojamais specifiniais antigenais, tačiau jo dalinis pokytis gali reikšti, kad pooperaciniu laikotarpiu nusistovi ilgalaikis įvairių naviko antigeninių faktorių fonas. Šiai hipotezei paaiškinti naudota schema, sudaryta remiantis keturiais pooperacinio PSA kitimo komponentais (4.1 pav.). Svarbiu atradimu tapo ePSA. Šio rodiklio įdiegimas į kasdienį bendrosios praktikos gydytojo darbą gali turėti didelę reikšmę laiku išaiškinant pooperacinį PV atkrytį. Bendrosios praktikos gydytojai (BPG), stebėdami ligonius po PV operacijos, toliau atsižvelgia į laboratorinio tyrimo normą (PSA <3ng/ml), kuri tinka tik PV atrankai (angl. *screening*), tačiau yra labai pavojinga

vertinant pooperacinį biocheminį atkrytį (PSA $\geq 0,2$ ng/ml). Taip gali būti praleistas laikas, kai lokalų atkrytį galima suvaldyti ST. Net esant R1, po RP ligonį galima stebėti, jeigu PSA $< 0,1$ ng/ml, tačiau, esant persistuojančiam PSA arba daugybiniais aukštos rizikos faktoriams (sėklinių pūslių invazija, Gleason > 7), taikytina ST [312]. PSA padidėjus daugiau negu 0,7 ng/ml, ST mažai efektyvi. ePSA panaudojimas galėtų išspręsti šią problemą BPG grandies lygmeniu. Esant ePSA > 0 , BPG turėtų siūsti ligonį urologo konsultacijos.

Kalbamoji situacija nėra vien Lietuvos BP gydytojų problema. Pavyzdžiui, Naujojoje Zelandijoje 67 proc. BPG nežino, kad pooperacinė PSA norma privalo būti „neaptinkama“ [237]. ePSA norma yra ≤ 0 ir tai gali padėti BP gydytojams laiku pastebėti teigiamą ePSA ir BCR. Mokslinėje literatūroje galima rasti rekomendacijų taikyti įvairius metodus, siekiant išryškinti VŽ atkrytį (238, 240, 243). ePSA įvedimas turėtų pasiteisinti ne tik PV atveju – analogiškai jį galima pritaikyti pooperaciniu laikotarpiu stebint pacientus, sergančius kitų lokalizacijų vėžiu (pvz., eCA15-3). Pirminės sveikatos priežiūros paslaugų grandyje dažnai ignoruojama VŽ kinetikos remisija, kai vertės svyruoja žemiau VŽ normos. Todėl galima laiku nepastebėti ligos atkryčio [238, 239]. VŽ padidėjimas gali būti pastebimas net 6–17 mėn. anksčiau negu pasireiškia klinikiniai atkryčio požymiai [238, 240]. Šiuo metu kai kurie VŽ išvestiniai kriterijai, pvz., PSA dvigubavimo laikas (DL), naudojami kaip atkryčio rodiklis [241]. Tačiau DL ir PL kriterijai, atsižvelgiant į klinikinę praktiką, nėra patogūs dėl kelių priežasčių: 1) DL/PL vertės nėra apibrėžtos, kai VŽ nekinta (dalyba iš 0); 2) sunku interpretuoti dideles ir labai greitai kintančias DL/PL vertes; 3) kyla matematinių sunkumų, nes vertės tampa nepatikimos dėl pasiskirstymo asimetrijos [242]. Tačiau eVŽ turi akivaizdžių privalumų: nėra laiko apribojimo kraujo ėminiams (teoriškai pakartotinas bandymas gali būti atliekamas kitą savaitę), o jo vertė apskaičiuojama pagal dviejų VŽ verčių santykį natūriniame logaritme. Ši svarbi aplinkybė (dviejų VŽ santykio logaritmas) pamištama, kai gydytojai vertina VŽ padidėjimą ar sumažėjimą, remdamiesi paprastu, o ne logaritminiu dviejų VŽ reikšmių santykiu.



4.1 pav. ePSA kitimo dinamika 1–3 mėn. laikotarpiu po operacijos

Ketrios dedamosios gali lemti pooperacinio PSA kritimo dinamiką. A dedamoji – operacinė prostatos manipuliacija gali sukelti ankstyvą PSA šoktelėjimą („PSA flare“); B dedamoji – pooperacinis kritimas, ypač laisvo PSA, susijęs su likusio plazmoje PSA metabolizmu kepenyse; C – likutinio naviko dedamoji (teigiami kraštai, mikrometastazės ir kt.); D – stabili dedamoji, nes mažą PSA kiekį gali gaminti ir ne prostatos audiniai (pvz., PSA neretai būna teigiamas ir moterims). Hipotezė – C dedamoji gali anksti parodyti minimalaus likutinio naviko apimtį ir proliferacinį aktyvumą.

Rekomenduotina ePSA (ar kito vėžio žymens e išvestinė) yra identiška farmakokinetikos eliminacijos greičio konstantai, rodančiai atvirkštinę vaisto kiekio, esančio cirkuliacijoje ir pasižymintį savitu PL, vertę. Šiame darbe tai vadinama eliminacijos greičiu. Apibendrinant ePSA rezultatus, galima teigti, kad ePSA vertė, rodanti PSA pokyčio procentą per dieną, yra patogus rodmuo, papildantis įprastinį PSA tyrimą. ePSA matematiniu požiūriu yra korektiškas ir dėl to naudotinas, neturintis trūkumų, būdingų pusėjimo laiko ar dvigubėjimo laiko rodikliams. ePSA lengvai interpretuojamas ir suprantamas.

Atliekant tyrimą, nemažai dėmesio skirta B-limfocitams, kurių reikšmingumas pastaruoju metu vis plačiau aptariamas įvairiose prostatos vėžio studijose.

Keliuose naujausiuose klinikiniuose tyrimuose, siekiant pagerinti PV gydymo rezultatus, buvo bandoma prieš operaciją sukelti papildomą imuninį atsaką. Pavyzdžiui, šiuo metu intensyviai tyrinėjamas, neoadjuvantiškai skiriamas rituksimabo [244], ibrutinibo [245], atezolizumabo [246], pembrolizumabo [247] kartu su antiandrogenais, poveikis PV. Tiriamos vakcinos [248, 249] ir kai kurie kiti imunomodulatoriai [250] dėl imunosupresiją mažinančių jų savybių. Visi šie imunologiniai gydymo būdai skirti PV sergantiems ligoniams, neatsižvelgiant į jų imunologinę būklę ikioperaciniu ar pooperaciniu laikotarpiu. Pažengusiam, chemoterapijai ir hormonoterapijai rezistentiškam PV gydyti, kai prostatos biopate nustatomas didelis mikrosatelitų nestabilumo rodmuo (angl. *microsatellite instability-high*, MSI-H) arba yra klaidingai suporuotų nukleotidų DNR pažaidų taisymo sistemos stoka (angl. *mismatch repair deficient*, dMMR), 2021 m. JAV patvirtintas pembrolizumabas (*Keytruda*).

Minėtina, kad įvairūs imunomoduliuojantys gydymo būdai, taikyti pacientams be aiškaus ir žinomo imunologinio rodmens organizme, kai kuriais retais atvejais turėjo akivaizdų teigiamą gydomąjį efektą. Pavyzdžiui, tik 5 proc. pacientų, sergančių išplitusiu KRPV, po 35-ųjų ciklų 200 mg pembrolizumabo gydymo kurso sumažėjo PSA ir nebuvo PV progresavimo požymių kompiuterinės tomografijos tyrime [251]. Kai kuriems šio tyrimo pacientams nustatytas net 90 proc. PSA sumažėjimas. Vis dėlto kitiems PV sergantiems ligoniams šio tyrimo metu nebuvo jokio atsako, jų PSA toliau didėjo, nepaisant pembrolizumabo terapijos. Įdomius rezultatus atsitiktinai pastebėjo klinicistai – jų praktikoje būta PV sergančių pacientų, kuriems kartu pasireiškė ir B-lėtinė limfocitų leukemija. Paaiškėjo, kad, gydant rituksimabu, kuris visiškai pašalina periferinius B-limfocitus, leukemija sergančiam ligoniui gali ženkliai pagerėti PV eiga ir galima pasiekti visišką remisiją net metastatinio KRPV atveju [252].

Kai kurių neendokrinių navikų pašalinimas gali eliminuoti nepageidaujamą, naviko sukeltą hematologinį poveikį, pavyzdžiui, sumažinti leukemoidinę reakciją [253]. Mūsų kelta hipotezė – po naviko ekscizijos taip pat turėtų įvykti tam tikrų imunologinių persitvarkymų organizme, todėl atlikta RP poveikio B-limfocitams analizė. Paradoksalu tai, kad B- ir T- populiacijų pokyčiai iki šiol buvo mažai tyrinėti PV šalinimo metu, nors PV laikomas imunogenišku naviku [254]. PV yra imunogeniškas, tačiau jis retai reaguoja į IPS terapiją [249]. Sisteminis poveikis organizmui, naviką pašalinus chirurgiškai, gali sukelti daug fiziologinių organizmo persitvarkymų, kurie gali smarkiai pakeisti piktybinės ligos eigą. Yra žinoma, kad chirurginis stresas mažina imunitetą, sukelia uždegimą, padidina krešėjimą ir palengvina metastatinį plitimą, o imunomodulatoriai,

tokie, kaip interferonas gama, granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius, prostaglandino E2 antagonistai, sumažina chirurginio streso poveikį [255]. Taip pat egzistuoja ir priešingas poveikis – tam tikrais atvejais chirurginis naviko pašalinimas gali atkurti užblokuotą priešnavikinį imunitetą [252, 256]. „Bloko“ panaikinimas gali atverti kelią perioperacinei imunoterapijai. Pastarąjį teiginį pagrindžiantys įrodymai buvo gauti atlikus dalinį PV pašalinimą, esant oligometastazinei ligai [257]. Taigi kontroversiškas požiūris atlikti chirurginę intervenciją, esant metastazavusiam PV, kai kuriais atvejais gali pasiteisinti [258]. Eksperimentiniai tyrimai, remiantys šią koncepciją, yra pagrįsti atliekant eksperimentus su pelėmis. Pavyzdžiui, pašalinus pirminį naviką, pelės tapo atsparios singeninio naviko pakartotinam suleidimui [256].

Šiuolaikinė chirurginio PV gydymo strategija – iki operacijos ištyrus ligonį ir neradus metastazių, radikaliai pašalinti naviką. Tačiau Tc-99m kaulų skenavimas, naudojamas metastazėms rasti kaip standartinė procedūra, gali būti nepakankamai jautrus, palyginti su pozitronų emisijos tomografijos (PET-KT) vaizdinimu panaudojant prostatos specifinį membranınį antigeną (PSMA) [315]. Tai reiškia, kad bent dalis pacientų gali būti operuojami chirurgui nežinant apie jau esančią mikrometastatinę ligą. Įdomu tai, kad vyrų, mirusių nuo nesusijusių su PV priežasčių, skrodimai parodė, jog maždaug 1/3 prostatos mėginių buvo randamas PV, o 11 proc. šių „tyliųjų PV atvejų“ rasta metastazių [259]. Todėl chirurginis stresas vargu ar gali būti vertinamas kaip „nekaltas“ gydant PV, o specifinių žymenų, rodančių imuninį persitvarkymą po RP, dar ieškoma [260]. RP sumažino CD19+ procentinį kiekį. Šis pokytis, nors ir nedidelis, vertinamas kaip galimas imuniteto dalinis atsigavimas.

Pašalinus naviką arba taikant ST, gali būti pastebimas kraujo ląstelių skaičiaus sumažėjimas pacientams, kuriems iki operacijos pasireiškia paraneoplastinė leukemoidinė reakcija [261]. Pooperacinis CD19+ sumažėjimas, taip pat potencialiai buvo „gydomojo“ RP poveikio dalis.

Iš mokslinės literatūros žinoma, kad, periferiniame PV pacientų kraujyje randamos į leukemiją panašios B ląstelės yra susijusios su nepalankia prognoze ir atsparumu ST [262]. Z. R. Yangas ir bendraautorai [263], atlikę tyrimą, pademonstravo, kad po ST, taikytos PV sergantiems pacientams, kurių kraujyje nustatytas mažesnis CD19+CD5+ limfocitų skaičius, buvo galima tikėtis geresnių gydymo rezultatų. Taigi CD19+CD5+ kraujo ląstelių vaidmuo dar turėtų būti ištirtas derinant operacinį ir imunoterapinį poveikį.

Imunofenotipo persitvarkymai dažniau pasireiškė LRP metodu operuotiems ligoniams, palyginti su ARP metodu operuotais tiriamaisiais.

Žinoma, kad, taikant minimaliai invazinį chirurginį metodą, galima tikėtis imunitetą tausojančio sisteminio poveikio. Pavyzdžiui, chirurginės traumos sumažinimas, taikant LO, atkuria ikioperaciniu laikotarpiu sumažėjusią IL-2, TNF, INF gamybą T ląstelėse; šis fenomenas nepasireiškia panaudojus atvirosios chirurgijos techniką [264]. Įrodyta, kad eksperimentinis laparoskopinis metodas gali smarkiai sumažinti naviko progresavimo greitį – to nepavyksta pasiekti atlikus laparotomiją [265]. Priešnavikinio imuniteto atsigavimas kai kuriuose modeliuose buvo pastebėtas atliekant operacinį gydymą tik minimaliai invaziniu metodu [266]. Pagreitėjusi naviko proliferacija po laparotomijos, atrodo, yra susijusi su sutrikusiu T limfocitų aktyvumu [265]. Įdomu tai, kad imunosupresijos ir CRB kiekio kraujyje padidėjimas dažniau pasireiškė ligoniams, kuriems buvo taikomas atvirosios kolorektalinės rezekcijos metodas, o operuojant laparoskopiniu metodu to nebuvo fiksuojama [267]. Visų pirma, LRP nesukelia reikšmingo cirkuliuojančių PV ląstelių skaičiaus padidėjimo, priešingai negu ARP [268].

Atkreiptinas dėmesys, kad imunomoduliacinių vaistų, vartojamų perioperatyviai PV tyrimuose, kurie vis dar vyksta (244–247, 250), tyrėjai turėtų atsižvelgti į imunologinį chirurginės intervencijos poveikį ir taikyti minimaliai invazinį chirurginį metodą.

Atlikus tyrimą, galima teigti, kad T limfocitų pokyčiai buvo tikėtini. Tai, kad chirurginės intervencijos suaktyvintos CD8+ T ląstelės reaguoja į naviko antigenus, rodo palyginti energinga ir aktyvi citokinų sekrecija, jų proliferacija ir navikinio audinio infiltracija [269]. Nepastebėta jokių reikšmingų CD4+ ląstelių pooperacinių skaičiaus pokyčių nei tarp rizikos grupių nei tarp operacinių metodų. Stabilus CD4+ lygis kartu su padidėjusiu CD8+ lygmeniu lėmė chirurgijos sukeltą CD4/CD8 santykio sumažėjimą MR pacientų grupėje. Kai kurie tyrėjai linkę priskirti šį reiškinį ankstyvam pooperaciniam stresui ir jį tiria atlikdami operacines intervencijas pilvo srityje.

Minėtina, kad kitų tyrėjų darbuose pristatomi panašūs rezultatai, nagrinėjant LO ir AO sukeltą imuniteto slopinimą. Sisteminio imuniteto būklė buvo geriau išsaugota operuojant LO būdu (122, 123, 270). Išlieka diskusijos dėl lokalaus imuniteto, kuris gali būti svarbus atliekant operacijas pilvo srityje. Pavyzdžiui, N. Gupta ir bendraautoriai [270] nurodo, kad pilvaplėvės makrofagų funkcija gali būti blogiau išsaugota, atliekant LO. Bet pooperacinių infekcinių komplikacijų dažnis buvo gerokai mažesnis, atliekant LO, palyginti su AO [271]. Šioje studijoje AO imunosupresinis poveikis buvo matyti 15 dieną po operacijos, o LO nesukėlė IS sutrikimų. Tyrėjai daro išvadą, kad cirkuliuojančių T helperių funkcija turėtų atsikurti

daug greičiau, atliekant LO. Kiti tyrėjai nustatė, kad nedidelis stresas sumažina CD4/CD8 ląstelių santykį pelių blužnyje [187]. Dar kituose tyrimuose aptikta, kad CD4/CD8 santykio pooperacinis atsikūrimas ir prognozės pagerėjimas gali būti pasiekti pridodant adoptyvinę imunoterapiją [272]. Kai kurie autoriai mano, kad navike esančių, o ne cirkuliuojančių CD8+ ląstelių skaičius rodo imunologinės priežiūros funkcionalumą. Taigi didesnis CD8+ skaičius PV audinyje sietinas su mažesne BCR ir metastazių rizika [273]. Taip pat pastebėtas ir priešingas CD8+ ląstelių poveikis – progresuojant navikui, šių ląstelių tankis naviko audinyje gali būti padidėjęs [274].

Atminties CD8+ T ląstelės skirstomos į tris grupes: a) cirkuliuojančias; b) esančias audiniuose; c) esančias navikiniuose audiniuose, kitaip dar vadinamas *naviko rezidentinėmis atminties CD8+ T ląstelėmis*. Chirurginė intervencija, naviko pašalinimas išderina šias atminties ląstelių populiacijas, todėl sunku paaiškinti bendrą cirkuliuojančių CD8+ T ląstelių atsigavimą. Jis pastebėtas tik MR grupėje. Iškelta hipotezė, kad lėtinis likutinio naviko ar po operacijos likusių PV produktų poveikis slopina cirkuliuojančių CD8+ subpopuliaciją DR pacientų grupėje. Vis dėlto T ląstelių, pasižyminčių bendra CD8+CD69+ raiška, skaičius pooperaciniu laikotarpiu padidėjo abiejose rizikos grupėse, o absoliutūs CD8+ skaičius DR ligonių atveju neišaugo. Mokslinėje literatūroje randame nurodyta, kad greitos atminties CD8+ T ląstelių emigracijos iš cirkuliacijos į nelimfoidinius audinius metu audiniuose didėja CD8+CD69+ ląstelių infiltracija [275]. Minėtas tyrimas atliktas ne su navikiniais, bet virusu užkrėstais audiniais. Tačiau mechanizmai, susiję su atminties CD8+ T ląstelių papildoma CD69 + raiška po antigeno stimuliacijos, turėtų būti panašūs ir navikiniuose audiniuose.

Galima daryti prielaidą, kad didesnis CD8+ ląstelių skaičius, likęs cirkuliacijoje pooperaciniu laikotarpiu, taip pat gali būti organizme panaudojamas CD69+ raiškai padidinti, todėl dvigubai teigiamos CD8+CD69+ T ląstelės organizme gali skubiai migruoti į audinius, jeigu juose užsiliko navikinio antigeno – pirminio naviko ar mikrometastazių. Taip hipotetiškai galėjo įvykti DRG atveju. Jeigu audiniuose neužsiliko navikinio antigeno (hipotetiškai MRG), visos CD8+ subpopuliacijos galimai liko kraujo cirkuliacijoje. Įrodyta, kad CD8+CD69+ ląstelių aktyvavimas yra pagrindinis naviko kontrolės veiksnys, bent jau eksperimentiniuose navikų modeliuose [276]. Tai, jog cirkuliuojančios CD8+CD69+ ląstelės dalyvauja su antigenu susijusioje audinių destrukcijoje, parodė biopsiniai mėginiai, paimti iš persodintos širdies endomiokardo transplantanto atmetimo metu [277]. CD4/CD8 santykis periferiniame kraujyje rastas didesnis tų pacientų, kurių gydymo ST rezultatai buvo geresni, negu

pacientų, kuriems PV eiga išlikdavo nepakitusi. Be to, PV audinio destrukcija, kurią sukelia išorinė radioterapija, atskleidė kitokį imunofenotipo persitvarkymą, palyginti su mūsų nustatytoju šiame darbe [278]. Tiesioginis naviko chirurginio pašalinimo ir ST palyginimas gali būti nepriimtinas analizuojant imunologinę būklę, nes ST taip pat gali sukelti sunkią, su gydymu susijusią limfocitopeniją. Mes taip pat tikėjomės, kad CD4+CD25+Fox3P+ T ląstelės (Treg ląstelės), kurios apima dvi limfocitų kategorijas (natūralias ir indukuotas Treg populiacijas), reaguos į PV chirurginį pašalinimą. Tiesą sakant, manoma, kad prostatą infiltruojančios CD4+Fox3P+ ląstelės skatina PV kancerogenezę ir tai vyksta dar prieš prasidedant piktybinei transformacijai [279]. Treg ir MDSC ląstelės šiuo metu yra vieni iš pagrindinių taikinių, siekiant terapinio poveikio PV sergantiems pacientams, gydomiems imuninės patikros slopikliais (IPS) [280]. Atliekant tyrimą, nenustatyta jokio RP sukulto poveikio Treg CD4 + CD25 + Fox3P+ ląstelėms. CD4/CD4 + CD25 + FoxP3+ santykio skaičiavimas taip pat nesuteikė jokios papildomos informacijos nei apie vieną iš analizuojamų grupių. Pastebėta, kad pooperacinis MDSC padidėjimas pasireiškė tik operuojant DR grupės ligonius. Tai rodo, kad imuninės būklės atsikūrimo pooperacinį efektą daug sunkiau pasiekti DR grupėje. Svarbu tai, kad LRP nepadidino MDSC ląstelių skaičiaus PV sergantiems ligoniams.

Imunitetą tausojantis LRP metodas, palyginti su ARP metodu, galimai turi pranašumą, nes nepadidina MDSC skaičiaus pooperaciniu laikotarpiu ir todėl negali taip lengvai išprovokuoti minimalios likutinės ligos progresavimo. Literatūroje atsiranda vis daugiau įrodymų, patvirtinančių, jog imunosupresiniai mechanizmai, susiję su MDSC, yra pagrindinis naviko progresavimo veiksnys ir kad šie mechanizmai skatina naviko galimybes išsprūsti iš imunologinės priežiūros [280]. Galima LRP naudoti, nepadidinant MDSC, vis tik nelėmė geresnių gydymo rezultatų mūsų tirtiems pacientams. Pacientų, kuriems atlikta LRP, ir pacientų, kuriems atlikta ARP, grupėse BCR dažnis buvo panašus, nors LRP atveju vis dėlto užfiksuota pranašumo tendencija ($p = 0,33$). Pastebėta, kad NK ląstelių skaičius didėja tik MR grupėje. Panašų PV operacijos NK atsaką neseniai nustatė ir Y. C. Lu su bendraautoriais [281], tačiau pastebėtas tik funkcinis NK atsigavimas, kuris įvykdavo po RP. Be to, teigiama, kad, nesant teigiamų rezekcinių kraštų, geriau atsikuria NK ląstelių funkcija pooperaciniu laikotarpiu. Mūsų atliktame tyrime rizikos grupių suskirstymas šiek tiek skyrėsi nuo nagrinėtosios studijos [282]. Funkcinio NK aktyvumo netyrėme, tačiau gauti rezultatai rodo, kad, pašalinus naviką, MR grupės pacientams padaugėjo NK ląstelių. Galima manyti, kad MR grupėje po RP reikia tikėtis NK ląstelių

tiek kiekybinio, tiek ir funkcinio aktyvumo atsikūrimo. Literatūroje yra duomenų, kad, palyginti su pradinėmis vėžio ligos stadijomis, esant pažengusiai vėžio stadijai, daug labiau slopinamas NK aktyvumas [282]. Todėl skirtingus atsako rezultatus MRG ir DRG pacientams galima paaiškinti taip: DR grupėje yra didesnė išplitimo ir likutinio naviko tikimybė (DRG priskirti ligoniai su R1, PSA ≥ 20 , Gleason 4+3 ir dažnesnį lokalių recidyvą lemianti pT3 stadija). Tiek LRP, tiek ir ARP atvejais vienodai atkurtas NK ląstelių kiekis po operacijos galėtų būti priežastis, dėl kurios nebuvo gauta BCR skirtumo tarp ARP ir LRP. Mažesnis ląstelių imuniteto pokytis po operacijos buvo įrodytas pacientams, gydytiems laparoskopiniu metodu, palyginti su pacientais, gydytais atvirąja laparotomija [183, 184]. Tačiau yra tyrimų, kurių metu nenustatyta jokių imunofenotipo skirtumų tarp atvirųjų ir laparoskopinių kolektomijų pacientams, sergantiems kolorektaliniu vėžiu [185].

LRP metodas dar nėra visuotinai laikomas „auksiniu standartu“, gydant PV chirurginiu būdu, tačiau laparoskopinis metodas (ypač robotu asistuojama laparoskopinė prostatektomija) vis labiau populiarėja taikant operacinį PV gydymą [283–285]. Nacionaliniai JAV kohortos duomenys atskleidė, kad šis metodas susijęs su kliniškai reikšmingu retesniu teigiamų operacinių ribų nustatymu, pooperacinės radioterapijos poreikiu ir 30-ies dienų mirtingumu, palyginti su atviruoju PV chirurginio gydymo metodu [286]. Nepaisant to, kai kurie urologai dėl tokių metodo privalumų išreiškia tam tikrą skepticizmą [287]. Vis dėlto daugėja įrodymų, liudijančių, kad LRP metodas ne tik sukelia mažiau skausmo ir greitesnį pooperacinį gijimą, bet ir pasižymi specifiniais biomedicininiais pranašumais. Pavyzdžiui, yra duomenų, rodančių, kad LRP metodas gali turėti pranašumų vien dėl to, jog operuojant šiuo būdu į cirkuliaciją patenka mažesnis naviko ląstelių skaičius [288] arba yra mažesnis kraujo perpylimo poreikis ir todėl mažiau slopinama IS [289]. Šie du veiksniai gali būti labai svarbūs imunologinei tarpusavio sąveikai, besiformuojančiai tarp ISL ir minimalios likutinės ligos. Nustatytas ryšys tarp didesnės vėžio atkryčio rizikos ir transfuzijų dažnio [290] ar cirkuliuojančių naviko ląstelių skaičiaus [291]. Autoantigeninė arba aloantigeninė hiperstimuliacija abiem minėtais atvejais vertintina neigiamai ir galėtų būti sumažinta operaciniam gydymui panaudojant LRP.

Atliekant tyrimą, stebėti skirtingi LRP pooperaciniai ISL pokyčio profiliai (CD8+ ↑, NK ↑, MDSC≈), jie lyginti su ARP (CD8+ ≈, NK ↑, MDSC ↑). ARP sukeltas MDSC skaičiaus padidėjimas kai kuriems pacientams gali lemti imunologinės funkcijos sutrikimų grandinę pooperaciniu laikotarpiu. Iš mokslinės literatūros žinoma apie MDSC padidėjimo neigiamą poveikį pooperacinio laikotarpio eigai plaučių vėžiu

sergantiems pacientams [291]. Šis tyrimas parodė, kad MDSC padidėdavo po plaučių vėžio operacijos, o chirurgijos sukeltas MDSC padidėjimas taip pat koreliavo su kitomis neigiamą įtaką ligos eigai turinčiomis ląstelėmis (Treg). Eksperimentinės chirurgijos sukeltos plaučių vėžio metastazės buvo susijusios su MDSC ląstelių skaičiaus padidėjimu, tiriant laboratorinius gyvūnus.

Reikšmingo Treg padidėjimo, nepriklausomai nuo ligonių rizikos grupės ar chirurginio gydymo metodo, atliekant tyrimą nepastebėta. Pooperacinis cirkuliuojančių MDSCs padidėjimas, nustatytas pacientų, kuriems atlikta ARP, grupėje, ir DRG pacientams gali būti interpretuojamas kaip potencialiai pavojingas veiksnys, keliantis didesnę ligos išplitimo riziką. Taip gali įvykti dėl MDSC savybių indukuoti snaudžiančių vėžinių ląstelių proliferaciją, nes MDSC gali aktyvuoti angiogenezės faktorius. Pavyzdžiui, po operacijos iš kraujo išskirtos MDSC ląstelės daug veiksmingiau skatino angiogenezę ir naviko augimą negu MDSC ląstelės, išskirtos dar prieš atliekant ligoniams chirurginę intervenciją dėl plaučių vėžio [292]. Taigi potencialiai mažiau invazinė operacija ir šiuo požiūriu turi pranašumą. Kad PV operacija gali daryti įtaką imuninių ląstelių funkcijai, 2020 M. aprašė Y. C. Lu ir bendraautoriai [281]. Nustatyta, kad po RP pavykdavo atkurti NK funkciją tik tada, kai nebuvo paliekama teigiamų operacinių kraštų. Diskusija dėl operacinių kraštų tarp LRP šalininkų ir LRP skeptikų egzistuoja iki šiol (9 lentelė).

LRP gali būti naudinga operuojant ligonius, sergančius gretutinėmis vėžinėmis ligomis, pavyzdžiui, leukemija, ar nustačius nedidelį aktyviai stebimą inksto naviką. Žinoma, kad minimaliai invazinis metodas sukelia mažesnę stresą ir gali įjungti specifinius, organizmui naudingus sisteminius mechanizmus. Įrodyta, kad mažesnė chirurginė trauma, taikant laparoskopinį metodą, nesunkiai atkuria sumažėjusią IL-2, TNF ir INF gamybą T ląstelėse [293]. Šis poveikis nepastebėtas AO metu. Eksperimentinių navikų progresavimas buvo daug lėtesnis atlikus laparoskopinę intervenciją, o ne laparotomiją [294]. Be to, eksperimente imuninės sistemos suaktyvėjimas buvo pastebėtas naudojant tik minimaliai invazinį metodą [295]. Minėtina, kad LRP, priešingai negu ARP, nesukelia cirkuliuojančių PV ląstelių skaičiaus padidėjimo [296].

9 lentelė. Teigiamų PV kraštų nustatymo dažnumas operuojant atviruoju ir LRP metodais (literatūros apžvalga nepatvirtina ARP pranašumų teigiamų kraštų atžvilgiu)

Publikacijos metai	Ligonių skaičius	Literatūra	Deklaruojamas ligonių procentas (teigiami rezekciniai kraštai) pT2		Deklaruojamas ligonių procentas (neigiami rezekciniai kraštai) pT3	
			ARP	LRP	ARP	LRP
2020	1200	(17)	n. t.	5,8 %	n. t.	26,1 %
2020	742	(297)	n. t.	n. t.	n. t.	26,3 %
2005	1000	(148)	2,9 %	n. t.	33,2 %	n. t.
2018	ARP = 753 LRP = 1792	(298)	10 %	17,2 %	48 %	33,3 %
2009	400	(299)	n. t.	9,6 %	n. t.	42,3 %
1998	152	(300)	7,4 %	n. t.	29,6 %	n. t.
2003	ARP = 77 LRP = 85	(301)	7,3 %	7,8 %	n. t.	n. t.
2007	133	(302)	n. t.	13 %	n. t.	20,9 %
2007	184	(303)	n. t.	2,5 %	n. t.	37,1 %
2007	2766	(304)	n. t.	13 %	n. t.	35 %
2003	1000	(305)	n. t.	15,5 %	n. t.	31,1 %
2003	439	(153)	n. t.	9,7 %	n. t.	37,1 %

Vienas iš dažniausiai nurodomų LRP metodo trūkumų – didesnė tikimybė palikti teigiamus kraštus. Kartais ARP šalininkai pasitelkia ne teigiamų kraštų kriterijų, bet, pavyzdžiui, tai, jog po LRP dažniau reikia taikyti adjuvantinę išorinę ST [306]. Nagrinėjant pastarųjų metų publikacijas, matyti, kad visos šios hipotezės paneigtos. Įdomu tai, kad po 2005 m. nebėra spausdinama studijų, kuriose būtų analizuojamos ARP teigiamos ribos.

Pastaba. n. t. – nebuvo tirta.

Gerai žinoma, kad sisteminis poveikis po chirurginės intervencijos gali sukelti visą grandinę pokyčių, galinčių išprovokuoti piktybinės ligos progresavimą [181, 307]. Egzistuoja ir priešinga sąvoka – chirurginis naviko pašalinimas atkuria užblokuotą priešnavikinį imunitetą [308] ir atveria kelią perioperacinei imunoterapijai. Šie įrodymai buvo gauti analizuojant oligometaziniam PV taikomo dalinio naviko pašalinimo rezultatus [309]. Kontroversiškas požiūris į metastazavusio PV chirurginį gydymą panašu, kad pasiteisina [310]. Apie tokio gydymo poveikį liudija ir eksperimentai su pelėmis, kurios tampa atsparios pakartotiniam naviko suleidimui, atlikus dalinį pirminio naviko pašalinimą [308].

Atliekant disertacijoje pristatomą tyrimą, DRG ir MRG pacientai pagal jų imunologinį profilį į chirurginį gydymą reagavo skirtingai. MR grupės imuninio atsako profilį galima apibūdinti kaip atkuriamąjį (CD3+↑, CD8+↑,

CD8+CD69+↑, NK↑, MDSC≈), o DR grupę galima apibūdinti kaip nepakankamai atkuriamąją (CD8+CD69+↑, MDSC↑). Nepakankamai atkurtas imunofenotipo profilis, matyt, atspindi sumažėjusią galimybę kontroliuoti minimalią liekamąją ligą.

Atliktas tyrimas turi tam tikrų trūkumų. Pirma, stebėjimo laikotarpis nebuvo pakankamai ilgas, kad būtų galima vertinti didesnę BCR kiekį. Antra, nagrinėjome sąlygines rizikos grupes, derindami mažą ir tarpinę riziką MR grupėje bei įtraukdami didelę bei labai didelę riziką turinčius ligonius į DR grupę. Šis skirstymas į kategorijas leido mums parodyti du skirtingus imunologinio profilio modelius, nevienodai reaguojančius į chirurginę intervenciją. Tačiau chirurgijos sukeltas ISL kiekio didėjimas, imuninių ląstelių populiacijų sudėties pasikeitimas ne visada reiškia terapinį pranašumą. Pavyzdžiui, įrodyta, kad naviko pašalinimas sukelia ženklų periferinių ląstelių CD279 (PD-1) raiškos sumažėjimą [311]. Paaikškėjo, kad dėl tokio pasikeitimo po chirurginės intervencijos sumažėja atsakas į IPS, nes jie veikia būtent CD279 (PD-1). Todėl, tyrėjų nuomone, IPS terapijos galimybė egzistuoja tik ankstyvojo perioperacinio laikotarpio metu, kol CD279+ ląstelės reaguoja į gydymą anti-PD-1 preparatais.

Tikslus ST panaudojimo laikotarpis pooperaciniu laikotarpiu (skirti adjuvantinę ar gelbstimąją ST) gali būti diskutuotinas, pavyzdžiui, jeigu yra „neišmatuojamas“ PSA ir DR faktorius (invazija į sėklinės pūslytes, Gleason >7) [312]. Yra autorių, teigiančių, kad ankstyvas adjuvantinės ST taikymas turi pranašumą [313], nors šiam požiūriui oponuojančių klinicistų taip pat yra nemažai [314]. Mūsų atlikto tyrimo duomenys gali būti naudojami klinikinėje praktikoje – nustatyta, kad atkryčio riziką galima įvertinti atsižvelgus į tiriamųjų ligonių ePSA ir kai kuriuos imunofenotipo rodiklius. Vadinas, kai yra neaišku, ar skirti adjuvantinę, ar gelbstimąją ST po RP, galima būtų remtis mūsų tyrimo duomenimis ir pacientams, kuriems galima didesnė BCR tikimybė, po operacijos skirti ST. Taip pat būtų galima identifikuoti MR grupės ligonius, kuriems kyla didesnė BCR grėsmė pooperaciniu laikotarpiu ir juos kruopščiau monitoruoti dėl PV recidyvo, neretinant PSA atlikimo dažnio. Atranką (angl. *screening*) pooperacinei ST klinikinėje praktikoje lengva įgyvendinti. Tam reikia tik dviejų PSA testų ankstyvuojant pooperaciniu laikotarpiu ir vieno priešoperacinio imunologinio tyrimo. Jeigu anksti būtų pritaikyta ST, bent jau teoriškai didesnei daliai pacientų galėtų būti sumažinta pooperacinio atkryčio tikimybė.

Taigi naviko pašalinimas prostatos vėžiu sergantiems ligoniams dvejopai keičia imuninių ląstelių populiacijų sudėtį. Mažos rizikos grupėje buvo stebimas reikšmingas pooperacinis T ląstelių, NK ląstelių ir CD8+CD69+ ląstelių kiekio padidėjimas ir nepakitęs MDSC supresinių

ląstelių kiekis kraujo cirkuliacijoje. Didelės rizikos grupėje buvo stebimas ribotas imuninių ląstelių kiekio padidėjimas, pasireiškiantis tik CD8+CD69+ ir supresinių MDSC ląstelių skaičiaus padidėjimu. Laparoskopinis metodas, skirtingai negu ARP, pasižymėjo labiau tausojančiu poveikiu imuninei sistemai ir pooperaciniu laikotarpiu nepadidindavo MDSC imunosupresinių ląstelių patekimo į kraujo cirkuliaciją.

IŠVADOS

1. LRP yra labiau tausojanti negu ARP, nes padidina citotoksinių limfocitų kiekį, efektyviau sumažina B limfocitų kiekį ir nepadidina provėžinių mieloidinių supresorių.

2. Pašalinus prostatos naviką, pastebima imunofenotipo pokyčių:

a) atsikuria T ląstelės, NK, CTL ir nedaugėja mieloidinių supresorių; tokia dinamika pastebėta laparoskopinėje ir mažos rizikos grupėse.

b) CTL kiekis nekinta, daugėja mieloidinių supresorių; pokytis matyti atvirosios operacijos ir didelės rizikos grupėse.

3. Atsižvelgiant į imunologinius parametrus, derinant juos su ePSA, galima prognozuoti biocheminį atkrytį 32 mėn. laikotarpiu: a) ARP prognostinis žymuo priešoperacinis CD4+Fox3P+; b) LRP prognostinis žymuo priešoperacinis CD4/CD8+CD69+ santykis. Šiems DR pacientams galima būtų skirti adjuvantinę ST.

REKOMENDACIJOS

1. ePSA prognozinė reikšmė numatant prostatos vėžio recidyvavimą, tikslinga tai įvertinti didelės apimties prospektyviuoju biomedicininio tyrimu.

2. LRP rekomenduotina ne tik dėl mažesnių pooperacinių skausmų, greitesnio grįžimo į darbą, kosmetinio efekto ar trumpesnės hospitalizacijos, bet ir kaip santykinai labiau tausojant imunitetą.

3. DR grupės ligoniams, kuriems, atlikto tyrimo duomenimis, išauga BCR tikimybė, rekomenduotina, atlikus operaciją, skirti ST. MR grupės ligonius, kuriems nustatoma padidėjusi BCR tikimybė, pooperaciniu laikotarpiu tikslinga monitoruoti dėl PV recidyvo, neretinant PSA atlikimo dažnio.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Patasius A, Innos K, Barchuk A et al. Prostate Cancer Incidence and Mortality in the Baltic States, Belarus, the Russian Federation and Ukraine. *BMJ Open* 2019; 9: e031856. doi: 10.1136/bmjopen-2019-031856.
2. Culp MB, Soerjomataramb I, Efstathiouc JA, Brayb F, Jemala A. Recent Global Patterns in Prostate Cancer Incidence and Mortality Rates. *Eur Urol* 2020; 77(1): 38–52.
3. Weiner AB, Matulewicz RS, Eggener SE, Schaeffer EM. Increasing Incidence of Metastatic Prostate Cancer in the United States (2004–2013). *Prostate Cancer and Prostatic Disease* 2016; 19(4): 395–397.
4. Statista. Leading Pharmaceutical Products by Sales Worldwide in 2020. Available at: <<https://www.statista.com/statistics/258022/top-10-pharmaceutical-products-by-global-sales-2011/>>.
5. Fay EK, Graff JN. Immunotherapy in Prostate Cancer. *Cancers (Basel)* 2020; 12(7): 1752. doi: 10.3390/cancers12071752.
6. Chen Z, Zhang P, Xu Y et al. Surgical Stress and Cancer Progression: the Twisted Tango. *Mol Cancer* 2019; 18(1): 132.
7. Krall JA, Reinhardt F, Mercury OA, Pattabiraman DR, Brooks MW, Dougan M, Lambert AW, Bieri B, Ploegh HL, Dougan SK, Weinberg RA. The Systemic Response to Surgery Triggers the Outgrowth of Distant Immune-Controlled Tumors in Mouse Models of Dormancy. *Science Translational Medicine* 2018; 10(436): eaan3464. doi: 10.1126/scitranslmed.aan3464.
8. Cooperberg MR, Broering JM, Carroll PER. Time Trends and Local Variation in Primary Treatment of Localized Prostate Cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28(7): 1117–1123.
9. Bill-Axelson A, Holmberg L, Garmo H, Taari K, Busch C, Nordling S et al. Radical Prostatectomy or Watchful Waiting in Prostate Cancer – 29-year Follow-up. *N Engl J Med* 2018; 379: 2319–29.
10. Young HH. The Early Diagnosis and Radical Cure of Carcinoma of the Prostate. Being a Study of 40 Cases and Presentation of a Radical Operation Which was Carried Out in Four Cases. 1905. *J Urol* 2002; 168(3): 914–921.
11. Tobias-Machado M, Mitre AI, Rubinstein M et al. Robotic-Assisted Radical Prostatectomy Learning Curve for Experienced Laparoscopic Surgeons: Does it Really Exist? *Int Braz J Urol* 2016; 42(1): 83–89.
12. Abu-Ghanem Y, Ramon J. Impact of Perioperative Blood Transfusions on Clinical Outcomes in Patients Undergoing Surgery for Major

- Urologic Malignancies. *Ther Adv Urol* 2019; 11: 1756287219868054. doi:10.1177/1756287219868054.
13. Rassweiler J, Stolzenburg J, Sulser T, Deger S, Zumbé J, Hofmockel G et al. Laparoscopic Radical Prostatectomy – the Experience of the German Laparoscopic Working Group. *Eur Urol* 2006; 49: 113–119.
 14. Ficarra V, Novara G, Artibani W, Cestari A, Galfano A, Graefen M et al. Retropubic, Laparoscopic, and Robot-Assisted Radical Prostatectomy: a Systematic Review and Cumulative Analysis of Comparative Studies. *Eur Urol* 2009; 55: 1037–1063.
 15. Porpiglia F, Morra I, Lucci Chiarissi M, Manfredi M, Mele F, Grande S et al. Randomised Controlled Trial Comparing Laparoscopic and Robot-Assisted Radical Prostatectomy. *Eur Urol* 2013; 63: 606–614.
 16. Willis DL, Gonzalgo ML, Brotzman M, Feng Z, Trock B, Su LM. Comparison of Outcomes Between Pure Laparoscopic vs Robot-Assisted Laparoscopic Radical Prostatectomy: a Study of Comparative Effectiveness Based Upon Validated Quality of Life Outcomes. *BJU Int* 2012; 109: 898–905.
 17. Kang SG, Shim JS, Onol F, Bhat KRS, Patel VR. Lessons Learned from 12,000 Robotic Radical Prostatectomies: Is the Journey as Important as the Outcome? *Investig Clin Urol* 2020; 61(1): 1–10.
 18. Mohme M, Riethdorf S, Pantel K. Circulating and Disseminated Tumour Cells – Mechanisms of Immune Surveillance and Escape. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 14: 155–167.
 19. Jahn JL, Giovannucci EL, Stampfer MJ. The High Prevalence of Undiagnosed Prostate Cancer at Autopsy: Implications for Epidemiology and Treatment of Prostate Cancer in the Prostate-Specific Antigen-Era. *Int J Cancer* 2015; 137: 2795–2802.
 20. Broncy L, Paterlini-Bréchet P. Clinical Impact of Circulating Tumor Cells in Patients with Localized Prostate Cancer. *Cells* 2019; 8(7): 676.
 21. Tsumura H, Satoh T, Ishiyama H, Tabata KI, Takenaka K, Sekiguchi A, Nakamura M, Kitano M, Hayakawa K, Iwamura M. Perioperative Search for Circulating Tumor Cells in Patients Undergoing Prostate Brachytherapy for Clinically Nonmetastatic Prostate Cancer. *Int J Mol Sci* 2017; 18. doi: 10.3390/ijms18010128.
 22. Friedlander TW, Welty C, Anantharaman A et al. Identification and Characterization of Circulating Tumor Cells in Men Who have Undergone Prostatectomy for Clinically Localized, High Risk Prostate Cancer. *J Urol* 2019; 202(4): 732–741.
 23. Zhang Q, Shan F, Li Z, Gao J, Li Y, Shen L, Ji J, Lu M. A prospective study on the changes and clinical significance of pre-operative and post-

- operative circulating tumor cells in resectable gastric cancer. *J Transl Med* 2018; 16: 171. doi: 10.1186/s12967-018-1544-1.
24. Duan XC, Zhu YJ, Cui Y, Yang ZR, Zhou SJ, Han Y, Yu DP, Xiao N, Cao XQ, Li YS et al. Circulating tumor cells in the pulmonary vein increase significantly after lobectomy: A prospective observational study. *Thor Cancer* 2019; 10: 163–169.
 25. Brown DC, Purushotham AD, Birnie GD, George WD. Detection of intraoperative tumor-cell dissemination in patients with breast-cancer by use of reverse transcription and polymerase chainreaction. *Surgery* 1995; 117: 96–101. doi: 10.1016/S0039-6060(05)80235-1.
 26. Ou HH, Huang Y, Xiang LY, Chen ZJ, Fang YH, Lin YX, Cui ZL, Yu S, Li XH, Yang DH. Circulating tumor cell phenotype indicates poor survival and recurrence after surgery for hepatocellular carcinoma. *Dig Dis Sci* 2018; 63: 2373–2380. doi: 10.1007/s10620-018-5124-2.
 27. Peach G, Kim C, Zacharakis E, Purkayastha S, Ziprin P. Prognostic significance of circulating tumour cells following surgical resection of colorectal cancers: a systematic review. *Brit J Cancer* 2010; 102(9): 1327–1334.
 28. Le UT, Bronsert P, Picardo F et al. Intraoperative detection of circulating tumor cells in pulmonary venous blood during metastasectomy for colorectal lung metastases. *Sci Rep* 2018; 8(1): 8751 [published correction appears in *Sci Rep* 2020; 10(1): 7633].
 29. Kauffman EC, Lee MJ, Alarcon SV et al. Lack of Impact of Robotic Assisted Laparoscopic Radical Prostatectomy on Intraoperative Levels of Prostate Cancer Circulating Tumor Cells. *J Urol* 2016; 195(4 Pt 1): 1136–1142.
 30. Wang HB, Guo Q, Li YH et al. Effects of Minimally Invasive Esophagectomy and Open Esophagectomy on Circulating Tumor Cell Level in Elderly Patients with Esophageal Cancer. *World J Surg* 2016; 40: 1655–1662.
 31. Huang HB, Ge MJ. The Effects of Different Surgical Approaches on the Perioperative Level of Circulating Tumor Cells in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Thorac Cardiovasc Surg* 2016; 64(6): 515–519.
 32. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420: 860–867.
 33. Antonio N, Bønnelykke-Behrndtz ML, Ward LC et al. The wound inflammatory response exacerbates growth of pre-neoplastic cells and progression to cancer. *EMBO J* 2015; 34(17): 2219–2236.
 34. Murdoch C, Muthana M, Coffelt SB, Lewis CE. The role of myeloid

- cells in the promotion of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 618–631.
35. Lee BR, Tan BJ, Smith AD. Laparoscopic port site metastases: incidence, risk factors, and potential preventive measures. *Urology* 2005; 65: 639–644.
 36. De Bruyne P, Schatteman P, De Naeyer G, Carpentier P, Motttrie A. Port site metastasis in prostate cancer. *Can Urol Assoc J* 2015; 9(5–6): E387-E389.
 37. Schneider C, Jung A, Reymond MA, Tannapfel A, Balli J, Franklin ME, Hohenberger W, Köckerling F. Efficacy of surgical measures in preventing port-site recurrences in a porcine model. *Surg Endosc* 2001; 15(2): 121–125.
 38. Mbaeri TU, Orakwe JC, Ezejiolori OI. Unsuspected skin metastasis of adenocarcinoma of the prostate in a patient on goserelin (Zoladex). *Niger J Surg* 2018; 24: 138–141.
 39. Chiang SP, Cabrera RM, Segall JE. Tumor cell intravasation. *Am J Phys Cell Phys* 2016; 311: C1–C14.
 40. Burnet FM. Concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res* 1970; 13: 1.
 41. Ogawa K, Hirai M, Katsube T, Murayama H, Hamaguchi K, Shimakawa T, Naritake Y, Hosokawa T, Kajiwara T. Suppression of cellular immunity by surgical stress. *Surgery* 2000; 127: 329–336.
 42. Shakhari G, Ben-Eliyahu S. Potential prophylactic measures against postoperative immunosuppression. Could they reduce recurrence rates in oncological patients? *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 972–992.
 43. Coffey JC, Wang JH, Smith MJF, Bouchier-Hayes D, Cotter TG, Redmond HP. Excisional surgery for cancer cure: therapy at a cost. *Lancet Oncol* 2003; 4: 760–768.
 44. Decker D, Tolba R, Springer W, Lauschke H, Hirner A, von Ruecker A. Abdominal Surgical Interventions: Local and Systemic Consequences for the Immune System – a Prospective Study on Elective Gastrointestinal Surgery. *J Surg Res* 2005; 126: 12–18.
 45. Wolf AM, Wolf D, Steurer M, Gastl G, Gunsilius E, Grubeck-Loebenstien B. Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 606–612.
 46. Decker T, Fischer G, Bucke W, Bucke P, Stotz F, Gruneberger A, Gropp-Meier M, Wiedemann G, Pfeiffer C, Peschel C, Gotze K. Increased number of regulatory T cells (Tregs) in the peripheral blood of patients with Her-2/neu-positive early breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 1945–1950.

47. Phillips JD, Knab LM, Blatner NR, Haghgi L, DeCamp MM, Meyerson SL, Heiferman MJ, Heiferman JR, Gounari F, Bentrem DJ, Khazaie K. Preferential expansion of pro-inflammatory Tregs in human non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2015; 64: 1185–1191. doi: 10.1007/s00262-015-1725-1.
48. Saito Y, Shimada M, Utsunomiya T, Morine Y, Imura S, Ikemoto T, Mori H, Hanaoka J, Iwahashi S, Yamada S, Asanoma M. Regulatory T cells in the blood: a new marker of surgical stress. *Surg Today* 2013; 43: 608–612.
49. Lissoni P, Brivio F, Fumagalli L, Messina G, Meregalli S, Porro G, Rovelli F, Vigore L, Tisi E, D'Amico G. Effects of the conventional antitumor therapies surgery, chemotherapy, radiotherapy and immunotherapy on regulatory T lymphocytes in cancer patients. *Anticancer Res* 2009; 29: 1847–1852.
50. Albertsmeier M, Quaiser D, von Dossow-Hanfstingl V, Winter H, Faist E, Angele MK. Major surgical trauma differentially affects T-cells and APC. *Innate Immun* 2015; 21: 55–64.
51. Cote AL, Usherwood EJ, Turk MJ. Tumor-specific T-cell memory: clearing the regulatory T-cell hurdle. *Cancer Res* 2008; 68: 1614–1617. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6012.
52. Gao XH, Tian L, Wu J, Ma XL, Zhang CY, Zhou Y, Sun YF, Hu B, Qiu SJ, Zhou J et al. Circulating CD14(+)HLA-DR-/low myeloid-derived suppressor cells predicted early recurrence of hepatocellular carcinoma after surgery. *Hepatol Res* 2017; 47: 1061–1071. doi: 10.1111/hepr.12831.
53. Li W, Wu K, Zhao ED, Shi L, Li RD, Zhang P, Yin YP, Shuai XM, Wang GB, Tao KX. HMGB1 recruits myeloid derived suppressor cells to promote peritoneal dissemination of colon cancer after resection. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 436: 156–161. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.04.109.
54. Ananth AA, Tai LH, Lansdell C, Alkayyal AA, Baxter KE, Angka L, Zhang J, Tanese de Souza C, Stephenson KB, Parato K et al. Surgical stress abrogates pre-existing protective T cell mediated anti-tumor immunity leading to postoperative cancer recurrence. *PLoS One* 2016; 11: e0155947.
55. Wang J, Su XS, Yang L, Qiao F, Fang Y, Yu L, Yang Q, Wang YY, Yin YF, Chen R, Hong ZP. The influence of myeloid-derived suppressor cells on angiogenesis and
56. Tai LH, Alkayyal AA, Leslie AL, Sahi S, Bennett S, Tanese de Souza C, Baxter K, Angka L, Xu R, Kennedy MA, Auer RC.

- Phosphodiesterase-5 inhibition reduces postoperative metastatic disease by targeting surgery-induced myeloid derived suppressor cell-dependent inhibition of Natural Killer cell cytotoxicity. *OncoImmunology* 2018; 7(6): e1431082.
57. Espi A, Arenas J, GarciaGranero E, Marti E, Lledo S. Relationship of curative surgery on natural killer cell activity in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1996; 39: 429–434.
 58. Angka L, Martel AB, Kilgour M, Jeong A, Sadiq M, de Souza CT, Baker L, Kennedy MA, Kekre N, Auer RC. Natural killer cell ifn gamma secretion is profoundly suppressed following colorectal cancer surgery. *Ann Surg Oncol* 2018; 25: 3747–3754.
 59. Ben-Eliyahu S, Shakhar G, Page GG, Stefanski V, Shakhar K. Suppression of NK cell activity and of resistance to metastasis by stress: A role for adrenal catecholamines and beta-adrenoceptors. *Neuroimmunomodulation* 2000; 8: 154–164.
 60. Meron G, Tishler Y, Shaashua L, Rosenne E, Levi B, Melamed R, Gotlieb N, Matzner P, Sorski L, BenEliyahu S. PGE(2) suppresses NK activity in vivo directly and through adrenal hormones: Effects that cannot be reflected by ex vivo assessment of NK cytotoxicity. *Brain Behav Immun* 2013; 28: 128–138. doi: 10.1016/j.bbi.2012.11.003.
 61. Pollock RE, Lotzova E, Stanford SD. Surgical stress impairs natural-killer-cell programming of tumor for lysis in patients with sarcomas and other solid tumors. *Cancer* 1992; 70: 2192–2202.
 62. Seth R, Tai LH, Falls T, de Souza CT, Bell JC, Carrier M, Atkins H, Boushey R, Auer RA. Surgical stress promotes the development of cancer metastases by a coagulation-dependent mechanism involving natural killer cells in a murine model. *Ann Surg* 2013; 258: 158–168.
 63. Snyder GL, Greenberg S. Effect of anaesthetic technique and other perioperative factors on cancer recurrence. *Br J Anaesth* 2010; 105: 106–115.
 64. Bueno V, Pestana JOM. The role of CD8+ T cells during allograft rejection. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2002; 35(11): 1247–1258.
 65. Ebel K, Babaryka G, Figel AM et al. Dominance of CD4+ lymphocytic infiltrates with disturbed effector cell characteristics in the tumor microenvironment of prostate carcinoma. *Prostate* 2008; 68(1): 1–10. doi:10.1002/pros.20661.
 66. Yunger S, Bar El A, Zeltzer LA et al. Tumor-infiltrating lymphocytes from human prostate tumors reveal anti-tumor reactivity and potential for adoptive cell therapy. *Oncoimmunology* 2019; 8(12): e1672494.

67. Lai JJ, Lai KP, Zeng W, Chuang KH, Altuwaijri S, Chang C. Androgen receptor influences on body defense system via modulation of innate and adaptive immune systems: lessons from conditional AR knockout mice. *Am J Pathol* 2012; 181(5): 1504–1512.
68. McDonald B, Spicer J, Giannais B, Fallavollita L, Brodt P, Ferri LE. Systemic inflammation increases cancer cell adhesion to hepatic sinusoids by neutrophil mediated mechanisms. *Int J Cancer* 2009; 125: 1298–1305. doi: 10.1002/ijc.24409.
69. Ten KM, Aalbers AGJ, Sluiter W, Hofland LJ, Sonneveld P, Jeekel J, Van Eijck CHJ. Polymorphonuclear leukocytes increase the adhesion of circulating tumor cells to microvascular endothelium. *Anticancer Res* 2007; 27: 17–22.
70. Mohme M, Riethdorf S, Pantel K. Circulating and disseminated tumour cells – mechanisms of immune surveillance and escape. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 14: 155–167.
71. Szczerba BM, Castro-Giner F, Vetter M, Krol I, Gkountela S, Landin J, Scheidmann MC, Donato C, Scherrer R, Singer J et al. Neutrophils escort circulating tumour cells to enable cell cycle progression. *Nature* 2019; 566: 553–557. doi: 10.1038/s41586-019-0915y.
72. Lord JM, Midwinter MJ, Chen YF, Belli A, Brohi K, Kovacs EJ, Koenderman L, Kubes P, Lilford RJ. The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. *Lancet* 2014; 384: 1455–1465. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60687-5.
73. Jorch SK, Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med* 2017; 23: 279–287.
74. Tohme S, Yazdani HO, Al-Khafaji AB, Chidi AP, Loughran P, Mowen K, Wang Y, Simmons RL, Huang H, Tsung A. Neutrophil extracellular traps promote the development and progression of liver metastases after surgical stress. *Cancer Res* 2016; 76: 1367–1380. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1591.
75. Krall JA, Reinhardt F, Mercury OA, Pattabiraman DR, Brooks MW, Dougan M, Lambert AW, Bierie B, Ploegh HL, Dougan SK, Weinberg RA. The systemic response to surgery triggers the outgrowth of distant immune-controlled tumors in mouse models of dormancy. *Science Translational Medicine* 2018; 10(436): eaan3464.
76. Albregues J, Shields MA, Ng D, Park CG, Ambrico A, Poindexter ME, Upadhyay P, Uyeminami DL, Pommier A, Küttner V, Bružas E, Maiorino L, Bautista C, Carmona EM, Gimotty PA, Fearon DT, Chang K, Lyons SK, Pinkerton KE, Trotman LC, Goldberg MS, Yeh JTH, Egeblad M. Neutrophil extracellular traps produced during

- inflammation awaken dormant cancer cells in mice. *Science* 2018; 361(6409): eaao4227.
77. Huang H, Tohme S, Al-Khafaji AB, Tai S, Loughran P, Chen L, Wang S, Kim J, Billiar T, Wang Y, Tsung A. Damage-associated molecular pattern-activated neutrophil extracellular trap exacerbates sterile inflammatory liver injury. *Hepatology* 2015; 62: 600–614. doi: 10.1002/hep.27841.
 78. Yin X, Xiao Y, Li F, Siyong Q, Yin Z, Gao J. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in prostate cancer. *Medicine* 2016; 95: 1–8.
 79. Tang L, Li X, Wang B, Luo G, Gu L, Chen L, Liu K, Gao Y, Zhang X. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in localized and advanced prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Plos one* 2016; 11(4): e0153981. doi: 10.1371/journal.pone.0153981.
 80. Kwon YS, Han CS, Yu JW, Kim S, Modi P, Davis R, Park JH, Lee P, Ha YS, Kim WJ. Neutrophil and lymphocyte counts as clinical markers for stratifying low-risk prostate cancer. *Clin genitourinary cancer* 2016; 14(1): 1–8.
 81. Langsenlehner T, Pichler M, Thurner EM, Krenn-Pilko S, Stojakovic T, Gerger A, Langsenlehner U. Evaluation of the platelet-to-lymphocyte ratio as a prognostic indicator in a European cohort of patients with prostate cancer treated with radiotherapy. *Urol oncol* 2015; 33(5): e9–e16. doi: 10.1016/j.urolonc.2015.02.002.
 82. Sun Z, Ju Y, Han F, Sun X, Wang F. Clinical implications of pretreatment inflammatory biomarkers as independent prognostic indicators in prostate cancer. *J Clin Lab Anal* 2018; 32(3): e22277. doi: 10.1002/jcla.22277.
 83. Li F, Hu H, Gu S, Chen X, Sun Q. Platelet to lymphocyte ratio plays an important role in prostate cancer's diagnosis and prognosis. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 11746–11751.
 84. Yuksel OH, Urkmez A, Akan S, Yildirim C, Verit A. Predictive value of the platelet-to-lymphocyte ratio in diagnosis of prostate cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 6407–6412.
 85. Wang J, Zhou X, He Y et al. Prognostic role of platelet to lymphocyte ratio in prostate cancer: A metaanalysis. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(40): e12504.
 86. Montagnana M, Danese E. Red cell distribution width and cancer. *Ann Transl Med* 2016; 4(20): 399. doi: 10.21037/atm.2016.10.50.
 87. FörhécZ Z, Gombos T, Borgulya G et al. Red cell distribution width in heart failure: prediction of clinical events and relationship with markers

- of ineffective erythropoiesis, inflammation, renal function, and nutritional state. *Am Heart J* 2009; 158: 659–666.
88. Lippi G, Targher G, Montagnana M et al. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in a large cohort of unselected outpatients. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 628–632.
 89. Veraldi GF, Mezzetto L, Scorsone L, Macri M, Bovo C, Simoncini F, Criscenti P, Lippi G. Red blood cell distribution width (RDW) is an independent predictor of post-implantation syndrome in patients undergoing endovascular aortic repair for abdominal aortic aneurysm. *Ann Transl Med* 2018; 6(23): 453.
 90. Bojakowski K, Dzabic M, Kurzejamska E et al. A high red blood cell distribution width predicts failure of arteriovenous fistula. *PLoS One* 2012; 7: e36482.
 91. Chesnutt JK, Han HC. Effect of Red Blood Cells on Platelet Activation and Thrombus Formation in Tortuous Arterioles. *Front Bioeng Biotechnol* 2013; 1: 18.
 92. Erdem A, Ceylan US, Esen A, et al. Clinical usefulness of red cell distribution width to angiographic severity and coronary stent thrombosis. *Int J Gen Med* 2016; 9: 319–324.
 93. Rodríguez-Carrio J, Alperi-López M, López P et al. Red cell distribution width is associated with endothelial progenitor cell depletion and vascular-related mediators in rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 2015; 240: 131–136.
 94. Tunçez A, Çetin MS, Çetin EH et al. Association between RDW and stent thrombosis in patients with STElevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96: e5986.
 95. Yazıcı P, Demir U, Bozdağ E et al. What is the effect of treatment modality on red blood cell distribution width in patients with acute cholecystitis? *Ulus Cerrahi Derg* 2015; 31: 1–4.
 96. Patel KV, Mohanty JG, Kanapuru B et al. Association of the red cell distribution width with red blood cell deformability. *Adv Exp Med Biol* 2013; 765: 211–216.
 97. Seth HS, Mishra P, Khandekar JV et al. Relationship between High Red Cell Distribution Width and Systemic Inflammatory Response Syndrome after Extracorporeal Circulation. *Braz J Cardiovasc Surg* 2017; 32: 288–294.
 98. Nashed SW, Esmat IM, Ashour TMA, El Desoki AAN. Red Cell Distribution Width versus Procalcitonin as A Marker for Severe Sepsis. *Nat Sci* 2019; 17(10): 180–184.

99. Yüksel C, Erşen O, Mercan Ü, Başçeken SI, Bakırarar B, Bayar S, Ünal AE, Demirci S. Long-Term Results and Current Problems in Laparoscopic Gastrectomy: Single-Center Experience. *Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques* 2020; 30(11).
100. Fukuokaya W, Kimura T, Onuma H et al. Red Cell Distribution Width Predicts Prostate-Specific Antigen Response and Survival of Patients With Castration-Resistant Prostate Cancer Treated With Androgen Receptor Axis-Targeted Agents. *Clin Genitourin Cancer* 2019; 17(3): 223–230.
101. Bailey SER, Ukoumunne OC, Shephard EA, Hamilton W. Clinical relevance of thrombocytosis in primary care: a prospective cohort study of cancer incidence using English electronic medical records and cancer registry data. *British Journal of General Practice* 2017; 67(659): e405-e413.
102. Gu M, Zhai Z, Huang L et al. Pre-treatment mean platelet volume associates with worse clinicopathologic features and prognosis of patients with invasive breast cancer. *Breast Cancer* 2016; 23: 752–760.
103. Kemal Y, Demirag G, Ekiz K, Yucel I. Mean platelet volume could be a useful biomarker for monitoring epithelial ovarian cancer. *J Obstet Gynaecol* 2014; 34: 515–518.
104. Kilincalp S, Ekiz F, Basar O et al. Mean platelet volume could be possible biomarker in early diagnosis and monitoring of gastric cancer. *Platelets* 2014; 25: 592–594.
105. Kumagai S, Tokuno J, Ueda Y et al. Prognostic significance of preoperative mean platelet volume in resected non-small-cell lung cancer. *Mol Clin Oncol* 2015; 3: 197–201.
106. Li JY, Li Y, Jiang Z, Wang RT, Wang XS. Elevated mean platelet volume is associated with presence of colon cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 10501–10504.
107. Fu S, Zhang X, Niu Y, Wang RT. Prostate Specific Antigen, Mean Platelet Volume, and Platelet Distribution Width in Combination to Discriminate Prostate Cancer from Benign Prostate Hyperplasia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2018; 19(3): 699–702.
108. Sciarra A, Gentilucci A, Salciccia S et al. Prognostic value of inflammation in prostate cancer progression and response to therapeutic: a critical review. *J Inflamm (Lond)* 2016; 13: 35. doi: 10.1186/s12950-016-0143-2.
109. Vitkin N, Nersesian S, Siemens DR, Koti M. The Tumor Immune Contexture of Prostate Cancer. *Front Immunol* 2019; 10: 603. doi: 10.3389/fimmu.2019.00603.

110. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *Journal of Clinical Oncology* 2010; 28(19): 3167–3175.
111. Yang S, Zhang Q, Liu S, Wang AR, You Z. PD-1, PDL1 and PD-L2 expression in mouse prostate cancer. *American Journal of Clinical and Experimental Urology* 2016; 4(1), 1–8.
112. Black M, Barsoum IB, Truesdell P et al. Activation of the PD-1/PD-L1 immune checkpoint confers tumor cell chemoresistance associated with increased metastasis. *Oncotarget* 2016; 7(9): 10557–10567.
113. Weiner AB, Matulewicz RS, Eggener SE, Schaeffer EM. Increasing incidence of metastatic prostate cancer in the United States (2004–2013). *Prostate Cancer and Prostatic Disease* 2016; 19: 395–397.
114. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *The New England Journal of Medicine* 2010; 363(5): 411–422.
115. Silvestri I, Cattarino S, Giantulli S, Nazzari C, Collalti G, Sciarra A. A perspective of immunotherapy for prostate cancer. *Cancers* 2016; 8(7).
116. Schellhammer PF, Chodak G, Whitmore JB, Sims R, Frohlich MW, Kantoff PW. Lower baseline prostatespecific antigen is associated with a greater overall survival benefit from sipuleucel-T in the Immunotherapy for Prostate Adenocarcinoma Treatment (IMPACT) trial. *Urology* 2013; 81(6): 1297–1302.
117. Holko P, Kawalec P. Economic evaluation of sipuleucel-T immunotherapy in castration-resistant prostate cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy* 2014; 14(1): 63–73.
118. Wichmann MW, Hüttl TP, Winter H et al. Immunological Effects of Laparoscopic vs Open Colorectal Surgery: A Prospective Clinical Study. *Arch Surg* 2005; 140(7): 692–697.
119. Kehlet H, Nielsen HJ. Impact of laparoscopic surgery on stress responses, immunofunction, and risk of infectious complications. *New Horiz* 1998; 6: S80-S88.
120. Bessler M, Whelan RL, Halverson A, Treat MR, Nowygrod R. Is immune function better preserved after laparoscopic versus open colon resection? *Surg Endosc* 1994; 8: 881–883.
121. Carey PD, Wakefield CH, Thayeb A, Monson JRT, Darzi A, Guillou PJ. Effects of minimally invasive surgery on hypochlorous acid production by neutrophils. *Br J Surg* 1994; 81(4): 557–560.
122. Bolla G, Tuzzato G. Immunologic postoperative competence after

- laparotomy vs laparotomy. *Surg Endosc* 2003; 171: 247–250.
123. Whelan RL, Franklin M, Holubar SD et al. Postoperative cell mediated immune response is better preserved after laparoscopic vs open colorectal resection in humans. *Surg Endosc* 2003; 17: 972–978.
 124. Kuntz C, Wunsch A, Bay F, Windeler J, Glaser F, Herfarth C. Prospective randomized study of stress and immune responses in laparoscopic vs conventional colonic resections. *Surg Endosc* 1998; 12: 963–967.
 125. Salo M. Effects of anaesthesia and surgery on the immune response. *Acta Anaesthesiol Scand* 1992; 36: 201–220.
 126. Shigemitsu Y, Saito T, Kinoshita T, Kobayashi M. Influence of surgical stress on bactericidal activity of neutrophils and complications of infection in patients with esophageal cancer. *J Surg Oncol* 1992; 50: 90–97.
 127. Lacy AM, Garcia-Valdecasas JC, Delgado S, Castells A, Taurá P, Piqué JM. Laparoscopy-assisted colectomy versus open colectomy for treatment of non-metastatic colon cancer: a randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 2224–2229.
 128. Graff JN, Antonarakis ES, Hoimes CJ et al. Pembrolizumab (pembro) plus enzalutamide (enza) for enza-resistant metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): KEYNOTE-199 cohorts 4–5. *J Clin Oncol* 2020; 38(6). doi: 10.1200/JCO.2020.38.6_suppl.15.
 129. Yuh BE, Kwon YS, Shinder BM et al. Results of Phase 1 study on cytoreductive radical prostatectomy in men with newly diagnosed metastatic prostate cancer. *Prostate Int* 2019; 7(3): 102–107.
 130. ClinicalTrials. Therapeutic Effect of Cytoreductive Radical Prostatectomy in Men With Newly Diagnosed Metastatic Prostate Cancer. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03456843>.
 131. Lee GT, Srivastava A, Kwon YS, Kim IY. Immune reaction by cytoreductive prostatectomy. *Am J Clin Exp Urol* 2019; 7(2): 64–79.
 132. Shakhar G, Ben-Eliyahu S. Potential Prophylactic Measures Against Postoperative Immunosuppression: Could They Reduce Recurrence Rates in Oncological Patients? *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 972–992.
 133. Eggermont AM, Steller EP, Marquet RL, Jeekel J, Sugarbaker PH. Local regional promotion of tumor growth after abdominal surgery is dominant over immunotherapy with interleukin-2 and lymphokine activated killer cells. *Cancer Detect Prev* 1988; 12(1–6): 421–429.
 134. Ben-Eliyahu S, Page GG, Yirmiya R, Shakhar G. Evidence that stress and surgical interventions promote tumor development by suppressing

- natural killer cell activity. *Int J Cancer* 1999; 80: 880–888.
135. Market M, Baxter KE, Angka L, Kennedy MA, Auer RC. The Potential for Cancer Immunotherapy in Targeting Surgery-Induced Natural Killer Cell Dysfunction. *Cancers (Basel)* 2018; 11(1): 2.
136. Carter JJ, Whelan RL. The immunologic consequences of laparoscopy in oncology. *Surg Oncol Clin N Am* 2001; 10(3): 655–677.
137. Ferri M, Rossi Del Monte S, Salerno G et al. Recovery of immunological homeostasis positively correlates both with early stages of right-colorectal cancer and laparoscopic surgery. *PLoS One* 2013; 8(9): e74455. doi: 10.1371/journal.pone.0074455.
138. Sietses C, Beelen R, Meijer S et al. Immunological consequences of laparoscopic surgery, speculations on the cause and clinical implications. *Langenbeck's Arch Surg* 1999; 384: 250–258.
139. ClinicalTrials. Neoadjuvant Pembrolizumab Plus Androgen Axis Blockade Prior to Prostatectomy for High Risk Localized Prostate Cancer. Available at:
<<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03753243>>.
140. ClinicalTrials. Combination Immunotherapy in Biochemically Recurrent Prostate Cancer. Available at:
<<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03315871>>.
141. Koo KC, Tuliao P, Yoon YE et al. Robot-assisted radical prostatectomy in the Korean population: a 5 year propensity-score matched comparative analysis versus open radical prostatectomy. *Int J Urol* 2014; 21(8): 781–785.
142. Finkelstein J, Eckersberger E, Sadri H, Taneja SS, Lepor H, Djavan B. Open Versus Laparoscopic Versus Robot-Assisted Laparoscopic Prostatectomy: The European and US Experience. *Rev Urol* 2010; 12(1): 35–43.
143. Ramsay C, Pickard R, Robertson C et al. Systematic Review and Economic Modelling of the Relative Clinical Benefit and Cost-Effectiveness of Laparoscopic Surgery and Robotic Surgery for Removal of the Prostate in Men with Localised Prostate Cancer. *Health Technology Assessment* 2012; 16(41): 1–313.
144. Eden CG. Minimal access prostatectomy: how is it shaping up? *BJU Int* 2008; 101: 791–792.
145. Toohar R, Swindle P, Woo H, Miller J, Maddern G. Laparoscopic radical prostatectomy for localized prostate cancer: a systematic review of comparative studies. *J Urol* 2006; 175: 2011–2017.
146. Marshall JR, King MR. Surgical intervention and circulating tumor cell count: a commentary. *Transl Cancer Res* 2016; 5(Suppl 1): S126–S128.

147. Gupta N, Visagie M, Kajstura TJ, Han M, Trock B, Gehrie EA, Frank SM, Bivalacqua TJ. Reducing preoperative blood orders and costs for radical prostatectomy. *J Comp Effect Res* 2020; 9: 219–226.
148. Lepor H. Open versus laparoscopic radical prostatectomy. *Rev Urol* 2005; 7(3): 115–127.
149. Ford BS, Sharma S, Rezaishiraz H, Huben RS, Mohler JL. Effect of perioperative blood transfusion on prostate cancer recurrence. *Urol Oncol* 2008; 26(4): 364–367.
150. Li SL, Ye Y, Yuan XH. Association between Allogeneic or Autologous Blood Transfusion and Survival in Patients after Radical Prostatectomy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*.
151. Diamantis T, Tsiminikakis N, Skordylaki A et al. Alterations of hemostasis after laparoscopic and open surgery. *Hematology* 2007; 12(6): 561–570.
152. Ulrych J, Kvasnicka T, Fryba V et al. 28 day post-operative persisted hypercoagulability after surgery for benign diseases: a prospective cohort study. *BMC Surg* 2016; 16: 16. doi: 10.1186/s12893-016-0128-3; 2017; 12(1): e0171081. doi:10.1371/journal.pone.0171081.
153. Rassweiler J, Seemann O, Schulze M et al. Laparoscopic versus open radical prostatectomy: a comparative study at a single institution. *J Urol* 2003; 169: 1689–1693.
154. Lepor H. Status of radical prostatectomy in 2009: is there medical evidence to justify the robotic approach?. *Rev Urol*. 2009; 11(2): 61–70.
155. Bove P., Iacovelli V. Laparoscopic Radical Prostatectomy. In: *Laparoscopy – An Interdisciplinary Approach*. 2011. Submitted: October 14th 2010Reviewed: May 16th 2011Published: September 12th 2011. doiDOI: 10.5772/16753.
156. Roumeguere T, Bollens R, Vanden Bossche M et al. Radical prostatectomy: a prospective comparison of oncological and functional results between open and laparoscopic approach. *World J Urol* 2003; 20: 3650–3656.
157. Klein EA, Kupelian PA, Tuason L, Levin HS. Initial dissection of the lateral fascia reduces the positive margin rate in radical prostatectomy. *Urology* 1998; 51: 766–773.
158. Touijer K, Kurdiwa K, Saranchuk JW et al. Quality improvement in laparoscopic radical prostatectomy for pT2 prostate cancer: impact of video documentation on positive surgical margins. *J Urol* 2005; 173: 763–778.
159. Rahul R. Parikh, Amil Patel, Sinae Kim, Isaac Yi Kim, Sharad Goyal.

- Comparative effectiveness of laparoscopic versus open prostatectomy for men with low-risk prostate cancer: a matched case-control study. *Int J Surg Oncol (N Y)*. 2017; 2(7): e13.
160. Menon M, Shrivastava A, Sarle R et al. Vattikuti Institute prostatectomy: a single-team experience of 100 cases. *J Endourol* 2003; 17: 785–790.
 161. Guillonneau B, El-Fettouch H, Baumest H. Laparoscopic radical prostatectomy: oncological evaluation after 1000 cases at Montsouris Institute. *J Urol* 2003; 169: 1261–1266.
 162. Ruiz L, Salomon L, Hoznek A et al. Comparison of early oncologic results of laparoscopic radical prostatectomy by extraperitoneal versus transperitoneal approach. *Eur Urol* 2004; 46: 50–54.
 163. Rassweiler J, Seemann O, Schulze M et al. Laparoscopic versus open radical prostatectomy: a comparative study at a single institution. *J Urol* 2003; 169: 1689–1693.
 164. Ong AM, Sul M, Varkarakis I et al. Nerve sparing radical prostatectomy: effects of hemostatic energy sources and the recovery of cavernous nerve function in a canine model. *J Urol* 2004; 172: 1318–1322.
 165. Sooriakumaran P, Pini G, Nyberg T et al. Erectile Function and Oncologic Outcomes Following Open Retropubic and Robot-assisted Radical Prostatectomy: Results from the LAParoscopic Prostatectomy Robot Open Trial. *Eur Urol* 2018; 73(4): 618–627.
 166. Yaxley JW, Coughlin GD, Chambers SK. Robot-assisted laparoscopic prostatectomy versus open radical retropubic prostatectomy: early outcomes from a randomized controlled phase 3 study. *Lancet* 2016; 388(10049): 1057–1066.
 167. Coughlin GD, Yaxley JW, Chambers SK et al. Robot-assisted laparoscopic prostatectomy versus open radical retropubic prostatectomy: 24-month outcomes from a randomised controlled study. *Lancet Oncol* 2018; 19(8): 1051–1060.
 168. Chen HR, Ting HK, Kao CC et al. Robot-assisted radical prostatectomy may induce inguinal hernia within the first 2 years: An 11-year single-surgeon experience of >400 cases. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(37): e12208.
 169. Lepor H, Kaci L. The role of intraoperative biopsies during radical retropubic prostatectomy. *Urology* 2004; 63: 499–502.
 170. Guillonneau B, Rozet F, Cathelineau X et al. Perioperative complications of laparoscopic radical prostatectomy: the Montsouris 3-year experience. *J Urol* 2002; 167: 51–56.

171. Orhurhu VJ, Gao CC, Ku C. Carbon Dioxide Embolism. StatPearls 2019. Available at:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539885/>>.
172. Park EY, Kwon JY, Kim KJ. Carbon dioxide embolism during laparoscopic surgery. *Yonsei Med J* 2012; 53(3): 459–466.
173. Bonjer HJ, Hazebroek EJ, Kazemier G, Giuffrida MC, Meijer WS, Lange JF. Open versus closed establishment of pneumoperitoneum in laparoscopic surgery. *Br J Surg* 1997; 84(5): 599–602.
174. Namiki S, Egawa S, Baba S et al. Recovery of quality of life in one year after laparoscopic or retropubic radical prostatectomy: a multi-institutional longitudinal study. *Urology* 2005; 65: 517–523.
175. Olsson LE, Salomon L, Nadu A et al. Prospective patient-reported continence after laparoscopic radical prostatectomy. *Urology* 2001; 58: 570–572.
176. Mayer EK, Winkler MH, Hrouda D, Karim O, Vale JA, Ogden C. The learning curve for robotic prostatectomy in a UK healthcare setting. *BJU Int* 2007; 99: 35–36.
177. Sauer S, Reed DR, Ihnat M, Hurst RE, Warshawsky D, Barkan D. Innovative ap-proaches in the battle against cancer recurrence: Novel strategies to combat dormant disseminated tumor cells. *Front Oncol* 2021; 11: 659963.
178. Ginzburg S, Nevers T, Staff I, Tortora J, Champagne A, Kesler SS, Laudone VP, Wagner JR. Prostate cancer bio-chemical recurrence rates after robotic-assisted laparo-scopic radical prostatectomy. *JSLs* 2012; 16: 443–450.
179. Kurbegovic S, Berg KD, Thomsen FB, Gruschy L, Iversen P, Brasso K, Røder MA. The risk of biochemical recurrence for intermediate-risk prostate cancer after radical prostatectomy. *Scand J Urol* 2017; 51: 450–456.
180. Ingram I. Surgery Rates Doubled for High-Risk Prostate Cancer. Use of Prostatectomy Nearly Equaled Radiotherapy in 2016. *MedPage Today* 2020. Available at:
<<https://www.medpagetoday.com/hematologyoncology/prostatecancer/88368>>. Accessed on August, 2021.
181. Tohme S, Simmons RL, Tsung A. Surgery for cancer: A trigger for metastases. *Cancer Res* 2017; 77: 1548–1552.
182. Janssen LM, Ramsay EE, Logsdon CD, Overwijk WW. The immune system in cancer metastasis: Friend or foe? *J Immunother Cancer* 2017; 79: 1–14.
183. Morgan TM, Lange PH, Porter MP, Lin DW, Ellis WJ, Gallaher IS,

- Vessella RL. Disseminated tumor cells in prostate cancer patients after radical prostatectomy and without evidence of disease predicts biochemical recurrence. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 677–683.
184. Whelan RL, Franklin M, Holubar SD, Donahue J, Fowler R, Munger C, Doorman J, Balli JE, Glass J, Gonzalez JJ et al. Postoperative cell mediated immune response is better preserved after laparoscopic vs open colorectal resection in humans. *Surg Endosc* 2003; 17: 972–978.
185. Tang CL, Eu KW, Tai BC, Soh JG, MacHin D, Seow-Choen F. Randomized clinical trial of the effect of open versus laparoscopically assisted colectomy on systemic immunity in patients with colorectal cancer. *Br J Surg* 2001; 88: 801–807.
186. Raytis JL, Lew MW. Surgical Stress Response and Cancer Metastasis: The Potential Benefit of Perioperative Beta Blockade. In: Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000–2013. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169223/>. Accessed on August, 2021.
187. Jiang W, Li Y, Sun J, Li L, Li J, Zhang C, Huang C, Yang J, Kong G, Li Z. Spleen contributes to restraint stress induced changes in blood leukocytes distribution. *Sci Rep* 2017; 7: 6501.
188. Chi N, Tan Z, Ma K, Bao L, Yun Z. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with cancer stages, interleukin-8 and -6 in prostate cancer. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7: 3181–3192.
189. Brusa D, Simone M, Gontero P, Spadi R, Racca P, Micari J, Degiuli M, Carletto S, Tizzani A, Matera L. Circulating immunosuppressive cells of prostate cancer patients before and after radical prostatectomy: Profile comparison. *Int J Urol* 2013; 20: 971–978.
190. Cole K, Pravoverov K, Talmadge JE. Role of myeloid-derived suppressor cells in metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2021; 40: 391–411.
191. Shackleton EG, Ali HY, Khan M, Pockley GA, McArdle SE. Novel combinatorial approaches to tackle the immunosuppressive microenvironment of prostate cancer. *Cancers* 2021; 13: 11–45.
192. Si TG, Wang JP, Guo Z. Analysis of circulating regulatory T cells (CD4+CD25+CD127-) after cryosurgery in prostate cancer. *Asian J Androl* 2013; 15(4): 461–465. doi: 10.1038/aja.2013.22.
193. Miller AM, Lundberg K, Ozenci V, Banham AH, Hellstrom M, Egevad L, Pisa P. CD4+CD25high T cells are enriched in the tumor and peripheral blood of prostate cancer patients. *J Immunol* 2006; 177: 7398–7405.

194. Shen LS, Wang J, Shen DF, Yuan XL, Dong P, Li MX, Xue J, Zhang FM, Ge HL, Xu D. CD4(+)CD25(+)CD127(low/-) regulatory T cells express Foxp3 and suppress effector T cell proliferation and contribute to gastric cancers progression. *Clin Immunol* 2009; 131: 109–118.
195. Karagoz B, Bilgi O, Gumus M, Erikci AA, Sayan O, Turken O, Kandemir EG, Ozturk A, Yaylaci M. CD8+CD28- cells and CD4+CD25+ regulatory T cells in the peripheral blood of advanced stage lung cancer patients. *Med Oncol* 2010; 27: 29–33.
196. Togashi Y, Shitara K, Nishikawa H. Regulatory T cells in cancer immunosuppression – implications for anticancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2019; 16: 356–371.
197. Kuniwa Y, Miyahara Y, Wang HY, Peng W, Peng G, Wheeler TM, Thompson TC, Old LJ, Wang RF. CD8+ Foxp3+ Regulatory T Cells Mediate Immunosuppression in Prostate Cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13(23): 6947–6958.
198. Davidsson S, Ohlson A, Andersson S et al. CD4 helper T cells, CD8 cytotoxic T cells, and FOXP3+ regulatory T cells with respect to lethal prostate cancer. *Mod Pathol* 2013; 26: 448–455.
199. Saito Y, Shimada M, Utsunomiya T et al. Regulatory T cells in the blood: a new marker of surgical stress. *Surg Today* 2013; 43(6): 608–612.
200. Chen C, Chen D, Zhang Y et al. Changes of CD4+CD25+FOXP3+ and CD8+CD28- regulatory T cells in nonsmall cell lung cancer patients undergoing surgery. *Int Immunopharmacol* 2014; 18(2): 255–261.
201. Dai SX, Gu HX, Lin QY et al. Decreased CD8+CD28+/CD8+CD28- T cell ratio can sensitively predict poor outcome for patients with complicated Crohn disease. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96(26): e7247.
202. Liu G, Yu Y, Feng F et al. Human CD8+CD28- T suppressor cells expanded by common gamma chain (γ_c) cytokines retain steady allospecific suppressive capacity in vivo. *BMC Immunol* 2020; 21(1): 23.
203. Huff WX, Kwon JH, Henriquez M, Fetcko K, Dey M. The Evolving Role of CD8+CD28- Immunosenescent T Cells in Cancer Immunology. *Int J Mol Sci* 2019; 20(11): 2810.
204. Hus I, Starosławska E, Bojarska-Junak A et al. CD3+/CD16+CD56+ cell numbers in peripheral blood are correlated with higher tumor burden in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Folia Histochem Cytobiol* 2011; 49(1): 183–187.
205. de Jonge K, Ebering A, Nassiri S et al. Circulating CD56 bright NK

- cells inversely correlate with survival of melanoma patients. *Sci Rep* 2019; 9: 44–87. Available at: <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-40933-8>>.
206. Amand M et al. Human CD56^{dim}CD16^{dim} Cells As an Individualized Natural Killer Cell Subset. *Front Immunol* 2017, 19(8): 699.
 207. Fregni G et al. Phenotypic and Functional Characteristics of Blood Natural Killer Cells from Melanoma Patients at Different Clinical Stages. *PLoS One* 2013; 8: 1–9.
 208. Koo KC, Shim DH, Yang CM et al. Reduction of the CD16(-)CD56bright NK cell subset precedes NK cell dysfunction in prostate cancer. *PLoS One* 2013; 8(11): e78049. doi: 10.1371/journal.pone.0078049.
 209. Oikawa T, Kawai K, Ishiwata I, Ohno T, Akaza H. Induction of potent antitumour natural-killer cells from peripheral blood of patients with advanced prostate cancer. *BJU Int* 2003; 92: 1009–1015.
 210. Kastelan M, Kraljic I, Tarle M. NK cell activity in treated prostate cancer patients as a probe for circulating tumor cells: hormone regulatory effects in vivo. *Prostate* 1992; 21: 111–120.
 211. Sfanos KS, De Marzo AM. Prostate cancer and inflammation: The evidence. *Histopathology* 2012; 60: 199–215.
 212. Hood SP, Foulds GA, Imrie H, Reeder S, McArdle SEB, Khan M, Pockley AG. Phenotype and Function of Activated Natural Killer Cells From Patients With Prostate Cancer: Patient-Dependent Responses to Priming and IL-2 Activation. *Front Immunol* 2019; 9: 31–69. doi: 10.3389/fimmu.2018.03169.
 213. Angka L, Khan ST, Kilgour MK, Xu R, Kennedy MA, Auer RC. Dysfunctional Natural Killer Cells in the Aftermath of Cancer Surgery. *Int J Mol Sci* 2017; 18(8): 17–87. doi: 10.3390/ijms18081787.
 214. Shi L, Guo H, Zheng Z, Liu J, Jiang Y, Su Y. Laparoscopic Surgery Versus Open Surgery for Colorectal Cancer: Impacts on Natural Killer Cells. *Cancer Control* 2020; 27(1): 1073274820906811.
 215. Wu FP, Sietses C, von Blomberg BM, van Leeuwen PA, Meijer S, Cuesta MA. Systemic and peritoneal inflammatory response after laparoscopic or conventional colon resection in cancer patients: a prospective, randomized trial. *Dis Colon Rectum* 2003; 46(2): 147–155.
 216. Xia X, Zhang Z, Xu J, Zhao G, Yu F. Comparison of postoperative lymphocytes and interleukins between laparoscopy-assisted and open radical gastrectomy for early gastric cancer. *J Int Med Res* 2019; 47(1): 303–310.
 217. Chi N, Tan Z, Ma K, Bao L, Yun Z. Increased circulating myeloid-

- derived suppressor cells correlate with cancer stages, interleukin-8 and -6 in prostate cancer. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7(10): 3181–3192.
218. Diaz-Montero CM, Salem ML, Nishimura MI, Garrett-Mayer E, Cole DJ, Montero AJ. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58(1): 49–59.
219. Sevcíková L, Hunáková L, Chorváth B, Turzová M, Boljesíková E. T-lymphocyte subsets [CD4/CD8 ratio] in breast cancer patients. *Neoplasma* 1992; 39: 219–222.
220. Hernberg M, Muhonen T, Turunen JP et al. The CD4+/CD8+ ratio as a prognostic factor in patients with metastatic melanoma receiving chemoimmunotherapy. *J Clin Oncol* 1996; 14(5): 1690–1696.
221. Yang QK, Su YN, Wang W, Wang N, Yao ZX, Zhang XJ. CONUT Score or/and Peripheral Blood CD4+/CD8+ Ratio-Based Web Dynamic Nomograms to Predict the Individualized Survival of Patients with Advanced Osteosarcoma. *Cancer Management and Research* 2020; 12: 4193–4208.
222. Yang ZR, Zhao N, Meng J, Shi ZL, Li BX, Wu XW et al. Peripheral lymphocyte subset variation predicts prostate cancer carbon ion radiotherapy outcomes. *Oncotarget* 2016; 7(18): 26422–26435.
223. Narita S, Tsuchiya N, Kumazawa T, Maita S, Numakura K, Obara T, Tsuruta H, Saito M, Inoue T, Horikawa Y et al. Comparison of Surgical Stress in Patients Undergoing Open Versus Laparoscopic Radical Prostatectomy by Measuring Perioperative Serum Cytokine Levels. *J Laparoendosc Adv Surg Tech* 2013; 23: 33–37.
224. Shibata J, Ishihara S, Tada N, Kawai K, Tsuno NH, Yamaguchi H, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T. Surgical stress response after colorectal resection: A comparison of robotic, laparoscopic, and open surgery. *Tech Coloproctol* 2015; 19: 275–280.
225. Shariat SF, Kattan MW, Traxel E, Andrews B, Zhu K, Wheeler TM, Slawin KM. Association of pre- and postoperative plasma levels of transforming growth factor beta(1) and interleukin 6 and its soluble receptor with prostate cancer progression. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1992–1999.
226. Bahig H, Taussky D, Delouya G et al. Neutrophil count is associated with survival in localized prostate cancer. *BMC Cancer* 2015; 15: 594. doi: 10.1186/s12885-015-1599-9.
227. Tas M, Yavuz A, Ak M, Ozcelik B. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio in Discriminating Precancerous

- Pathologies from Cervical Cancer. *J Oncol* 2019; 2019: 2476082.
228. Yao M, Liu Y, Jin H et al. Prognostic value of preoperative inflammatory markers in Chinese patients with breast cancer. *Onco Targets Ther* 2014; 7: 1743–1752. doi: 10.2147/OTT.S69657.
229. Seitanides B, Giakoumakis G, Tsakona C. Increased red cell volume distribution width in patients with bone marrow metastases. *J Clin Pathol* 1988; 41(11): 1246.
230. Koma Y, Onishi A, Matsuoka H et al. Increased red blood cell distribution width associates with cancer stage and prognosis in patients with lung cancer. *PLoS One* 2013; 8(11): e80240.
231. Seretis C, Seretis F, Lagoudianakis E, Gemenetzi G, Salemi NS. Is red cell distribution width a novel biomarker of breast cancer activity? Data from a pilot study. *J Clin Med Res* 2013; 5(2): 121–126.
232. Albayrak S, Zengin K, Tanik S et al. Red Cell Distribution Width as a Predictor of Prostate Cancer Progression. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(18): 7781–7784.
233. Lee SI, Lee SY, Choi CH, Park CH, Park KY, Son KH. Relation between changes in red blood cell distribution width after coronary artery bypass grafting and early postoperative morbidity. *J Thorac Dis* 2018; 10(7): 4244–4254. doi: 10.21037/jtd.2018.06.108.
234. Bou-Dargham MJ, Sha L, Sang QXA, Zhang J. Immune landscape of human prostate cancer: Immune evasion mechanisms and biomarkers for personalized immunotherapy. *BMC Cancer* 2020; 20: 572.
235. Gaudreau PO, Stagg J, Soulières D, Saad F. The present and future of biomarkers in prostate cancer: Proteomics, genomics, and immunology advancements. *Biomark Cancer* 2016; 8: 15–33.
236. Brown MD, van der Most R, Vivian JB, Lake RA, Larma I, Robinson BW, Currie AJ. Loss of antigen cross-presentation after complete tumor resection is associated with the generation of protective tumor-specific CD8(+) T-cell immunity. *Oncoimmunology* 2012; 1: 1084–1094.
237. Yassaie O, McLaughlin B, Perera M, Manning T, Lawrentschuk N, Malcolm A. Primary care follow-up of radical prostatectomy patients: A regional New Zealand experience. *Prostate Int* 2016; 4(4): 136–139.
238. Di Gioia D, Stieber P, Schmidt G, Nagel D, Heinemann V, Baur-Melnyk A. Early detection of metastatic disease in asymptomatic breast cancer patients with whole-body imaging and defined tumour marker increase. *Br J Cancer* 2015; 112(5): 809–818.
239. Chapman CH, Caram M, Radhakrishnan A, Tsodikov A, Deville C, Burns J et al. Association between PSA values and surveillance quality

- after prostate cancer surgery. *Cancer Med* 2019; 8(18): 7903–7912.
240. Wilder JL, Pavlik E, Straughn JM, Kirby T, Higgins RV, De Priest PD et al. Clinical implications of a rising serum CA-125 within the normal range in patients with epithelial ovarian cancer: a preliminary investigation. *Gynecol Oncol* 2003; 89(2): 233–235.
241. Freedland SJ, Humphreys EB, Mangold LA, Eisenberger M, Dorey FJ, Walsh PC et al. Risk of prostate cancer-specific mortality following biochemical recurrence after radical prostatectomy. *JAMA* 2005; 294(4): 433–439.
242. Mehrara E, Forssell-Aronsson E, Ahlman H, Bernhardt P. Specific growth rate versus doubling time for quantitative characterization of tumor growth rate. *Cancer Res* 2007; 67(8): 3970–3975.
243. Guidelines for radical treatment of locally-advanced disease (section 6.2.4.5.). European Association of Urology. EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands. Available at: <http://uroweb.org/guidelines/compilationsof-all-guidelines/>.
244. Rituximab Neoadjuvant Therapy in Patients With Prostate Cancer Scheduled to Undergo Radical Prostatectomy. ClinicalTrials.gov. Identifier: NCT01804712. Verified May 2017. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01804712>.
245. Ibrutinib as Neoadjuvant Therapy in Localized Prostate Cancer. ClinicalTrials.gov. Identifier: NCT02643667. Last Update Posted: March 16, 2020. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02643667>.
246. An Open-Label Multi-Center Phase II Study of Neoadjuvant Atezolizumab-Based Combination Therapy in Men with Localized Prostate Cancer Prior to Radical Prostatectomy. ClinicalTrials.gov. Identifier: NCT03821246. Last Update Posted: November 12, 2020. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03821246>.
247. Phase II Study of Neoadjuvant Pembrolizumab Plus Intensive Androgen Axis Blockade Prior to Prostatectomy for High Risk Localized Prostate Cancer. ClinicalTrials.gov. Identifier: NCT03753243. Last Update Posted: September 23, 2020. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03753243>.
248. Fong L, Carroll P, Weinberg V, Chan S, Lewis J, Corman J, et al. Activated lymphocyte recruitment into the tumor microenvironment following preoperative sipuleucel-T for localized prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106: dju268. doi: 10.1093/jnci/dju268.
249. Abdul Sater H, Marté JL, Donahue RN, Walter-Rodriguez B, Heery CR, Steinberg SM et al. Neoadjuvant PROSTVAC prior to radical

- prostatectomy enhances T-cell infiltration into the tumor immune microenvironment in men with prostate cancer. *J Immunother Cancer* 2020; 8: e000655. doi: 10.1136/jitc-2020-000655. PMID: 32269146.
250. Neoadjuvant Dupilumab in Men with Localized High-Risk Prostate Cancer. *ClinicalTrials.gov*. Identifier: NCT0388649. Last Update Posted: October 14, 2020. Available at: <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03886493>>.
251. Antonarakis ES, Piulats JM, Gross-Goupil M, Goh J, Ojamaa K, Hoimes CJ et al. Pembrolizumab for Treatment-Refractory Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Multicohort, Open-Label Phase II KEYNOTE-199 Study. *J Clin Oncol* 2020; 38: 395–405. doi: 10.1200/JCO.19.01638. Epub 2019 Nov 27. PMID: 31774688.
252. Ryan ST, Zhang J, Burner DN, Liss M, Pittman E, Muldonget M et al. Neoadjuvant rituximab modulates the tumor immune environment in patients with high-risk prostate cancer. *J Transl Med* 2020; 18.
253. Granger JM, Kontoyiannis DP. Etiology and outcome of extreme leukocytosis in 758 nonhematologic cancer patients: a retrospective, single-institution study. *Cancer* 2009; 115: 3919–3923. doi: 10.1002/cncr.24480. PMID: 19551882.
254. Bou-Dargham MJ, Sha L, Sang QXA, Zhang J. Immune landscape of human prostate cancer: immune evasion mechanisms and biomarkers for personalized immunotherapy. *BMC Cancer* 2020; 20. Available at: <<https://doi.org/10.1186/s12885-020-07058-y>>.
255. Ni Choileain N, Redmond HP. Cell response to surgery. *Arch Surg* 2006; 141(11): 1132–1140. doi: 10.1001/archsurg.141.11.1132. PMID: 17116807.
256. Aliche B, Totpal K, Schartner JM, Berkley AM, Lehar SM, Capietto AH et al. Immunization associated with primary tumor growth leads to rejection of commonly used syngeneic tumors upon tumor rechallenge. *J Immuno Therapy Cancer* 2020; 8: e000532. doi: 10.1136/jitc-2020-000532.
257. Xue P, Wu Z, Wang K, Gao G, Zhuang M, Yan M. Oncological Outcome of Combining Cytoreductive Prostatectomy and Metastasis-Directed Radiotherapy in Patients with Prostate Cancer and Bone Oligometastases: A Retrospective Cohort Study. *Cancer Manag Res* 2020; 12: 8867–8873. doi:10.2147/CMAR.S270882.
258. Battaglia A, de Meerleer G, Tosco L, Moris L, van den Broeck T, Devos G, Everaerts W, Joniau S. Novel insights into the management of oligometastatic prostate cancer: a comprehensive review. *Eur Urol Oncol* 2019; 2: 174–188. doi: 10.1016/j.euo.2018.09.005.

259. Zlotta AR, Egawa S, Pushkar D, Govorov A, Kimura T, Kido M et al. Prevalence of Prostate Cancer on Autopsy: Cross-Sectional Study on Unscreened Caucasian and Asian Men. *J Nat Cancer Inst* 2013; 105: 1050–1058.
260. Gaudreau PO, Stagg J, Soulières D, Saad F. The Present and Future of Biomarkers in Prostate Cancer: Proteomics, Genomics, and Immunology Advancements. *Biomark Cancer* 2016; 8(Suppl 2): 15–33. doi: 10.4137/BIC.S31802.
261. Abukhiran I, Mott SL, Bellizzi AM, Boukhar SA. Paraneoplastic leukemoid reaction: Case report and review of the literature. *Pathol Res Pract* 2020; 217: 153295. doi: 10.1016/j.prp.2020.153295. PMID: 33341546D.
262. Auria F, Valvano L, Rago L, Statuto T, Calice G, D’arena G et al. Monoclonal B-cell lymphocytosis and prostate cancer: incidence and effects of radiotherapy. *J Investig Med* 2019; 67: 779–782. doi: 10.1136/jim-2018-000902. PMID: 30635362.
263. Yang ZR, Zhao N, Meng J, Shi ZL, Li BX, Wu XW et al. Peripheral lymphocyte subset variation predicts prostate cancer carbon ion radiotherapy outcomes. *Oncotarget* 2016; 7(18): 26422–26435. doi: 10.18632/oncotarget.8389. PMID: 27029063. PMCID: PMC5041989.
264. Brune IB, Wilke W, Hensler T, Holzmann B, Siewert JR. Downregulation of T helper type 1 immune response and altered pro-inflammatory and anti-inflammatory T cell cytokine balance following conventional but not laparoscopic surgery. *Am J Surg* 1999; 17: 755–760.
265. Allendorf JD, Bessler M, Kayton ML, Oesterling SD, Treat MR, Nowygrod R et al. Increased tumor establishment and growth after laparotomy vs laparoscopy in a murine model. *Arch Surg* 1995; 130: 649–653. doi: 10.1001/archsurg.1995.01430060087016. PMID: 7763175.
266. Wildbrett P, Oh A, Carter JJ, Schuster H, Bessler M, Jaboci CA et al. Increased rates of pulmonary metastases following sham laparotomy compared to CO₂ pneumoperitoneum and the inhibition of metastases utilizing perioperative immunomodulation and a tumor vaccine. *Surg Endosc* 2002; 16: 1162–1169. doi: 10.1007/s00464-001-8158-y. PMID: 11984655.
267. Shibata J, Ishihara S, Tada N, Kawai K, Tsuno Nh, Yamaguchi H. Surgical stress response after colorectal resection: a comparison of robotic, laparoscopic, and open surgery. *Tech Coloproctol* 2015;

- 19: 275–280. doi: 10.1007/s10151-014-1263-4. PMID: 25762242.
268. Kauffman EC, Lee MJ, Alarcon SV, Lee S, Hoang AN, Walton Diaz A et al. Lack of Impact of Robotic Assisted Laparoscopic Radical Prostatectomy on Intraoperative Levels of Prostate Cancer Circulating Tumor Cells. *J Urol* 2016; 195(4 Pt 1): 1136–1142. doi: 10.1016/j.juro.2015.11.013. PMID: 26581128.
269. Cookson MS, Aus G, Burnett AL, Canby-Hagino ED, D’Amico AV, Dmochowski RR et al. Variation in the definition of biochemical recurrence in patients treated for localized prostate cancer: The american urological association prostate guidelines for localized prostate cancer update panel report and recommendations for a standard in the reporting of surgical outcomes. *J Urol* 2007; 177: 540–545.
270. Gupta A, Watson DI. Effect of laparoscopy on immune function. *Br J Surg* 2001; 88(10): 1296–1306.
271. Braga M, Vignali A, Gianotti L et al. Laparoscopic versus open colorectal surgery: a randomized trial on short-term outcome. *Ann Surg* 2002; 236(6): 759–766.
272. Shindo G, Endo T, Onda M, Goto S, Miyamoto Y, Kaneko T. Is the CD4/CD8 ratio an effective indicator for clinical estimation of adoptive immunotherapy for cancer treatment? *J Cancer Ther* 2013; 4: 1382–1390.
273. Vicier C, Ravi P, Kwak L, Werner L, Huang Y, Evan C, Loda M, Hamid AA, Sweeney CJ. Association between CD8 and PD-L1 expression and outcomes after radical prostatectomy for localized prostate cancer. *Prostate* 2021; 81: 50–57.
274. Petitprez F, Fossati N, Vano Y, Freschi M, Becht E, Lucianò R, Calderaro J, Guédet T, Lacroix L, Rancoita PMV et al. PD-L1 expression and CD8+ T-cell infiltrate are associated with clinical progression in patients with node-positive prostate cancer. *Eur Urol Focus* 2019; 5: 192–196.
275. Osborn JF, Hobbs SJ, Mooster JL, Khan TN, Kilgore AM, Harbour JC, Nolz JC. Central memory CD8+ T cells become CD69+ tissue-residents during viral skin infection independent of CD62L-mediated lymph node surveillance. *PLoS Pathog* 2019; 15: e1007633.
276. Lan B, Zhang J, Lu D, Li W. Generation of cancer-specific CD8+ CD69+ cells inhibits colon cancer growth. *Immunobiology* 2016; 221: 1–5.
277. Schowengerdt KO, Fricker FJ, Bahjat KS, Kuntz ST. Increased expression of the lymphocyte early activation marker CD69 in peripheral blood correlates with histologic evidence of cardiac allograft

- rejection. *Transplantation* 2000; 69: 2102–2107.
278. Yang ZR, Zhao N, Meng J, Shi ZL, Li BX, Wu XW, Li P, Zhang Q, Wei XB, Fu S. Peripheral lymphocyte subset variation predicts prostate cancer carbon ion radiotherapy outcomes. *Oncotarget* 2016; 7: 26422–26435.
279. Davidsson S, Andren O, Ohlson AL, Carlsson J, Andersson SO, Giunchi F, Rider JR, Fiorentino M. FOXP3+ regulatory T cells in normal prostate tissue, postatrophic hyperplasia, prostatic intraepithelial neoplasia, and tumor histological lesions in men with and without prostate cancer. *Prostate* 2018; 78: 40–47.
280. Cole K, Pravoverov K, Talmadge JE. Role of myeloid-derived suppressor cells in metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2021; 40: 391–411.
281. Lu YC, Kuo MC, Hong JH, Jaw FS, Huang CY, Cheng JC, Kung HN. Lower postoperative natural killer cell activity is associated with positive surgical margins after radical prostatectomy. *J Formos Med Assoc* 2020; 119: 1673–1683.
282. Hansen TF, Nederby L, Zedan AH, Mejlholm I, Henriksen JR, Steffensen KD, Thomsen CB, Raunkilde L, Jensen LH, Jakobsen A. Correlation between natural killer cell activity and treatment effect in patients with disseminated cancer. *Transl Oncol* 2019; 12: 968–972.
283. Koch MO. Robotic versus open prostatectomy: End of the controversy. *J Urol* 2016; 196: 9–10.
284. Qin Y, Han H, Xue Y, Wu C, Wei X, Liu Y, Cao Y, Ruan Y, He J. Comparison and trend of perioperative outcomes between robot-assisted radical prostatectomy and open radical prostatectomy: Nationwide inpatient sample 2009–2014. *Int Braz J Urol* 2020; 46: 754–771.
285. Du Y, Long Q, Guan B, Mu L, Tian J, Jiang Y, Bai X, Wu D. Robot-assisted radical prostatectomy is more beneficial for prostate cancer patients: A system review and meta-analysis. *Med Sci Monit* 2018; 24: 272–287.
286. Pearce SM, Pariser JJ, Karrison T, Patel SG, Eggener SE. Comparison of perioperative and early oncologic outcomes between open and robotic assisted laparoscopic prostatectomy in a contemporary population based cohort. *J Urol* 2016; 196: 76–81.
287. Schmid M, Gandaglia G, Trinh QD. The controversy that will not go away. *Eur Urol* 2015; 67: 439–440.
288. Kauffman EC, Lee MJ, Alarcon SV, Lee S, Hoang AN, Walton Diaz A, Chelluri R, Vourganti S, Trepel JB, Pinto PA. Lack of impact of robotic assisted laparoscopic radical prostatectomy on intraoperative levels of

- prostate cancer circulating tumor cells. *J Urol* 2016; 195: 1136–1142.
289. Gupta N, Visagie M, Kajstura TJ, Han M, Trock B, Gehrie EA, Frank SM, Bivalacqua TJ. Reducing preoperative blood orders and costs for radical prostatectomy. *J Comp Eff Res* 2020; 9: 219–226.
290. Li SL, Ye Y, Yuan XH. Association between allogeneic or autologous blood transfusion and survival in patients after radical prostatectomy: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 2017; 12: e0171081.
291. Galletti G, Portella L, Tagawa ST, Kirby BJ, Giannakakou P, Nanus DM. Circulating tumor cells in prostate cancer diagnosis and monitoring: An appraisal of clinical potential. *Mol Diagn Ther* 2014; 18: 389–402.
292. Wang J, Su X, Yang L, Qiao F, Fang Y, Yu L, Yang Q, Wang Y, Yin Y, Chen R et al. The influence of myeloid-derived suppressor cells on angiogenesis and tumor growth after cancer surgery. *Int J Cancer* 2016; 138: 2688–2699.
293. Brune IB, Wilke W, Hensler T, Holzmann B, Siewert JR. Downregulation of T helper type 1 immune response and altered pro-inflammatory and anti-inflammatory T cell cytokine balance following conventional but not laparoscopic surgery. *Am J Surg* 1999; 17: 755–760.
294. Allendorf JD, Bessler M, Kayton ML, Oesterling SD, Treat MR, Nowygrod R, Whelan RL. Increased tumor establishment and growth after laparotomy vs laparoscopy in a murine model. *Arch Surg* 1995; 130: 649–653.
295. Wildbrett P, Oh A, Carter JJ, Schuster H, Bessle M, Jaboci CA, Whelan RL. Increased rates of pulmonary metastases following sham laparotomy compared to CO₂ pneumoperitoneum and the inhibition of metastases utilizing perioperative immunomodulation and a tumor vaccine. *Surg Endosc* 2002; 16: 1162–1169.
296. Abdul Sater H, Marté JL, Donahue RN, Walter-Rodriguez B, Heery CR, Steinberg SM, Cordes LM, Chun G, Karzai F, Bilusic M et al. Neoadjuvant PROSTVAC prior to radical prostatectomy enhances T-cell infiltration into the tumor immune microenvironment in men with prostate cancer. *J Immunother Cancer* 2020; 8: e000655.
297. Porcaro AB, Sebben M, Corsi P et al. Risk factors of positive surgical margins after robot-assisted radical prostatectomy in high-volume center: results in 732 cases. *J Robot Surg* 2020; 14(1): 167–175.
298. Sooriakumaran P, Pini G, Nyberg T, Derogar M, Carlsson S, Stranne J et al. Erectile function and oncologic outcomes following open retropubic and robot-assisted radical prostatectomy: results from the

- laparoscopic prostatectomy robot open trial. *Eur Urol* 2018; 73: 618–627.
299. Murphy DG, Kerger M, Crowe H, Peters JS, Costello AJ. Operative details and oncological and functional outcome of robotic-assisted laparoscopic radical prostatectomy: 400 cases with a minimum of 12 months follow-up. *Eur Urol* 2009; 55: 1358–1366.
300. Klein EA, Kupelian PA, Tuason L, Levin HS. Initial dissection of the lateral fascia reduces the positive margin rate in radical prostatectomy. *Urology* 1998; 51: 766–773.
301. Roumeguere T, Bollens R, Vanden Bossche M et al. Radical prostatectomy: a prospective comparison of oncological and functional results between open and laparoscopic approach. *World J Urol* 2003; 20: 3650–3656.
302. Rozet F, Jaffe J, Braud G, Harmon J, Cathelineau X, Barret E et al. A direct comparison of robotic assisted versus pure laparoscopic radical prostatectomy: a single institution experience. *J Urol* 2007; 178: 478–482.
303. Mottrie A, Van Migem P, De Naeyer G, Schatteman P, Carpentier P, Fonteyne E. Robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy: oncologic and functional results of 184 cases. *Eur Urol* 2007; 52: 74650.
304. Badani KK, Kaul S, Menon M. Evolution of robotic radical prostatectomy: assessment after 2766 procedures. *Cancer* 2007; 110: 1951–1958.
305. Guillonneau B, El-Fettouch H, Baumest H. Laparoscopic radical prostatectomy: oncological evaluation after 1000 cases at Montsouris Institute. *J Urol* 2003; 169: 1261–1266.
306. Hu JC, Wang Q, Pashos CL, Lipsitz SR, Keating NL. Utilization and outcomes of minimally invasive radical prostatectomy. *J Clin Oncol* 2008; 26(14): 2278–2284.
307. Ben-Eliyahu S. Tumor excision as a metastatic Russian roulette: Perioperative interventions to improve long-term survival of cancer patients. *Trends Cancer* 2020; 6: 951–959.
308. Alicke B, Totpal K, Schartner JM, Berkley AM, Lehar SM, Capietto AH, Cubas RA, Gould SE. Immunization associated with primary tumor growth leads to rejection of commonly used syngeneic tumors upon tumor rechallenge. *J Immunother Cancer* 2020; 8: e000532.
309. Xue P, Wu Z, Wang K, Gao G, Zhuang M, Yan M. Oncological outcome of combining cytoreductive prostatectomy and metastasis-

- directed radiotherapy in patients with prostate cancer and bone oligometastases: A retrospective cohort study. *Cancer Manag Res* 2020; 12: 8867–8873.
310. Battaglia A, de Meerleer G, Tosco L, Moris L, van den Broeck T, Devos G, Everaerts W, Joniau S. Novel insights into the management of oligometastatic prostate cancer: A comprehensive review. *Eur Urol Oncol* 2019; 2: 174–188.
311. MacFarlane AW, Jillab M, Plimack ER, Hudes GR, Uzzo RG, Litwin S, Dulaimi E, Al-Saleem T, Campbell KS. PD-1 expression on peripheral blood cells increases with stage in renal cell carcinoma patients and is rapidly reduced after surgical tumor resection. *Cancer Immunol Res* 2014; 2: 320–331.
312. Zattoni F, Heidegger I, Kasivisvanathan V, Kretschmer A, Marra G, Magli A, Preisser F, Tilki D, Tsaor I, Valerio M, van den Bergh R, Kesch C, Ceci F, Fankhauser C, Gandaglia G. Radiation Therapy After Radical Prostatectomy: What Has Changed Over Time? *Front Surg* 2021; 8: 691473. doi: 10.3389/fsurg.2021.691473.
313. Borghetti P, Spiazzi L, Cozzaglio C, Pedretti S, Caraffini B, Triggiani L, Greco D, Bardoscia L, Barbera F, Buglione M et al. Postoperative radiotherapy for prostate cancer: The sooner the better and potential to reduce toxicity even further. *Radiol Med* 2018, 123, 63–70.
314. Alongi F, de Bari B, Franco P, Ciammella P, Chekrine T, Livi L, Jereczek-Fossa BA, Filippi AR, AIRO Young and AIRO Prostate cancer Working Group. The PROCAINA (PROstate CANcer INDication Attitudes) Project (Part I): A survey among Italian radiation oncologists on postoperative radiotherapy in prostate cancer. *Radiol Med* 2013; 118: 660–678.
315. Perera M, Papa N, Christidis D, Wetherell D, Hofman MS, Murphy DG et al. Sensitivity, Specificity, and Predictors of Positive ⁶⁸Ga-Prostate-specific Membrane Antigen Positron Emission Tomography in Advanced Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol* 2016; 70(6): 926–937.

PRIEDAI

1 priedas. GYVENIMO APRAŠYMAS

PATVIRTINTA

Lietuvos bioetikos komiteto direktoriaus
2016 m. sausio 25 d. įsakymu Nr. V-7

PAKEISTA

2016 m. gegužės 5 d. įsakymu Nr. V-13

1. Tyrėjo vardas, pavardė
Paulius Bosas
2. Informacija kontaktams:
Elektroninio pašto adresas: paulius.bosas@nvi.lt
3. Dabartinė darbovietė (*įstaigos pavadinimas, adresas*) ir pareigos
Nacionalinis vėžio institutas, Santariškių g. 1, LT-08660 Vilnius, Lietuva;
gydytojas urologas „Kardiolita“, Laisvės pr. 64A, LT-05263 Vilnius, Lietuva;
gydytojas urologas „Urolita“, Žemaitės g. 21, LT-03118 Vilnius, Lietuva; gydytojas urologas
4. Veiklos sritis, nurodyta licencijoje, licencijos data ir numeris
Gydytojas urologas, licencijos nr.: MPL-10811, licencijos išdavimo data: 2008-05-30
5. Mokslo laipsnis (mokslo laipsnio suteikimo data ir institucijos, suteikusios mokslo laipsnį, pavadinimas)
Neturi
6. Išsilavinimas (*kvalifikacijos suteikimo data; institucijos, suteikusios kvalifikaciją, pavadinimas*) ir kvalifikacijos tobulinimas per paskutinius penkerius metus (*stažuotės, kursai*)

Gydytojas urologas

Nuo 2001 iki 2003 Kauno medicinos universitetas, A. Mickevičiaus g. 9,
LT-44307 Kaunas, Lietuva

- Urologijos rezidentūra

- Nuo 1997 iki 2001 Bendrosios chirurgijos gydytojas
Kauno medicinos universitetas, A. Mickevičiaus g. 9,
LT-44307 Kaunas, Lietuva
- Bendrinė chirurgijos rezidentūra
- Nuo 1996 iki 1997 Medicinos gydytojas
Kauno medicinos universitetas, A. Mickevičiaus g. 9,
LT-44307 Kaunas, Lietuva
- Bendrinė rezidentūra
- Nuo 1990 iki 1996 Medicinos gydytojas
Kauno medicinos universitetas, A. Mickevičiaus g. 9,
LT-44307 Kaunas, Lietuva
- Studijos Gydamosios medicinos fakultete
- Nuo 1999 iki 1999 Gydytojas echoskopuotojas
Echoskopuotojų mokykla, Kaunas, Lietuva

Kvalifikacijos tobulinimas:

- 2017 05 12 „Iššūkiai privačioje urologijoje“, Kaunas.
2017 04 26 „Vėžio kontrolės programos įgyvendinimo kokybės gerinimas“, Vilnius.
2017 04 12 „Europos gairės dėl visaapimančio vėžio kontrolės pagerinimo“, Vilnius.
2017 03 01 „Priešvėžinių vakcinų efektyvumas. I/v chemoterapijos ir HIPEC efektyvumas onkologijoje“, Vilnius.
2017 02 15 „Kamieninių ląstelių atsakas į nanodalelių poveikį. Prostatos vėžio biožymenys kraujo serume“, Vilnius.
2017 01 26 „Šiuolaikinė medicina: klinikinė praktika išvien su mokslu“, Vilnius.
2016 12 07–08 „Urologinių ligų diagnostikos galimybės ir gydymo naujovės“, Vilnius.
2016 11 25 „Prostatitai“, Vilnius.
2016 09 16 „Šlapimo takų akmenligė ir endourologija – šiuolaikinis požiūris“, Kaunas.
2016 05 11 „Perioperacinės medicinos aktualijos:

skausmo ir kraujavimo valdymas. GERL gydymo naujovės. Onkologinio skausmo gydymas“, Kaunas
 2016 04 11 „Urologinių ligų sąlygotos seksualinės disfunkcijos“, Kaunas.
 2015 11 10 „Antibiotikų vartojimo aspektai gydytojo praktikoje“, Kaunas.
 2015 10 09 „Prostatos vėžio ankstyvoji diagnostika ir aktyvi stebėseną“, Vilnius
 2015 09 25 „Urologijos seminarai“, Vilnius.
 2015 09 11 „Infekcinių ligų diagnostikos, gydymo ir prevencijos aktualijos“, Vilnius.
 2015 01 23 „Klinikinių situacijų analizė ir patirtis kasdieniniame darbe“, Kaunas.
 2014 11 14 „Ūmių klinikinių situacijų analizė ir naujausi gydymo metodai“, Kaunas.
 2014 10 03 „Laboratorinės diagnostikos reikšmė šiuolaikinėje medicinoje“, Kaunas.
 2014 03 21 „Prostatos ir šlapimo pūslės vėžio diagnostikos ir gydymo aktualijos“, Vilnius.
 2014 01 31 „Urologinė patologija“, Druskininkai.
 2013 11 22 „Urologija- darnus įvairių specialybių gydytojų darbas“, Vilnius.
 2013 11 13 „Perkutaninis inkstų pūlinių drenažas kontroliuojant ultragarsu“, Kaunas.
 2013 11 6-7 „6th Collegium urologicum“, Praga, Čekija.

7. Darbo patirtis (*laikotarpis, institucijos pavadinimas, pareigos*)

- | | |
|--------------------|--|
| Nuo 2016 iki dabar | Gydytojas urologas
Nacionalinis vėžio institutas, Santariškių g. 1,
LT- 08406 Vilnius, Lietuva |
| Nuo 2018 iki dabar | Gydytojas urologas
MB „Urolita“, Savanorių pr. 6-124, LT-03116 Vilnius,
Lietuva |
| Nuo 2003 iki 2016 | Gydytojas urologas
VŠĮ Kauno klinikinė ligoninė, Josvainių g. 2,
LT-47144 Kaunas, Lietuva |

Urologines laparoskopines operacijas atlieku nuo 2005 m., urologines onkologines laparoskopines operacijas – nuo 2007 m.

- Nuo 2006 iki 2016 Gydytojas urologas
VšĮ Jonavos ligoninė, Žeimių g. 19, LT-55134 Jonava, Lietuva
- Nuo 2010 iki dabar Gydytojas urologas
UAB „Kardiolita“, Laisvės pr. 64A, LT-05263 Vilnius, Lietuva
- Nuo 2010 iki 2011 Gydytojas urologas
VšĮ Respublikinė Vilniaus universitetinė ligoninė, Šiltnamių g. 29, LT-04130 Vilnius, Lietuva
- Nuo 1999 iki 2007 Gydytojas urologas
UAB „Motina ir vaikas“, Savanorių pr. 245, LT-50154 Kaunas, Lietuva
Pradėjau dirbti pirminės medicinos praktikos gydytoju, vėliau dirbau andrologu, dar vėliau – urologu.
- Nuo 2003 iki 2020 Gydytojas urologas
VšĮ Kauno Šilainių poliklinika, Baltų pr. 7, LT-48259 Kaunas, Lietuva
- Nuo 1999 iki 2004 Gydytojas echoskopuotojas
VšĮ Kauno Šilainių poliklinika, Baltų pr. 7, LT-48259 Kaunas, Lietuva

8. Mokslinių publikacijų sąrašas:

1. Paulius Bosas, Gintaras Zaleskis, Daiva Dabkevičienė, Neringa Dobrovolskienė, Agata Mlynska, Renatas Tikuišis, Albertas Ulys, Vita Pašukonienė, Sonata Jarmalaitė, Feliksas Jankevičius. Immunophenotype Rearrangement in Response to Tumor Excision May Be Related to the Risk of Biochemical Recurrence in Prostate Cancer Patients. *Journal of Clinical Medicine* 2021 August. PMID: 34442004. PMCID: PMC8396861. doi: 10.3390/jcm10163709.
2. Gintaras Zaleskis, Paulius Bosas, Albertas Ulys, Daiva Dabkevičienė, Neringa Dobrovolskienė, Bret Andrew Hudson, Vita Pašukonienė. A Refinement of Clinical Tumor Marker Monitoring:

Why Not Use an Inverse Value of Doubling Time? *Medical Principles and Practice* 2021 Jun; 30(3): 292–296. doi: 10.1159/000515977.

3. Paulius Bosas, Gintaras Zaleskis, Vita Pasukoniene, Feliksas Jankevicius. Letter to the Editor: No Immunophenotyping in Peripheral Blood of Prostate Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Rituximab? *J Transl Med* 2020; 18: 333. Available at: <<https://doi.org/10.1186/s12967-020-02496-5>>.

4. Paulius Bosas, Gintaras Zaleskis, Bret Andrew Hudson, Feliksas Jankevicius, Vita Pasukoniene. Comparison of B lymphocyte effects of laparoscopic versus open prostatectomy in prostate cancer patients. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine* 2021; 8(3): 437–441.

5. Endoscopical Diagnosis and Treatment of Ureterocele. *Medicina* 1999; 35(2): 154.

6. Percutaneous Nephrostomy at the Kaunas Clinical Hospital. *Medicina* 2002; 38(1): 76–78.

7. Incidence of Varicocele Measured by Echoscropy. *Medicina* 2002; 38(1): 66–68.

8. Penis Deviation Correction Using Schroder's Method and Patients' Postoperative Quality of Life. *Medicina* 2002; 38(1): 63–65.

9. Dalyvavimo biomedicininiuose tyrimuose patirtis (tyrimo sritis, tyrimo pradžios ir pabaigos data, tyrimo fazė (jei yra), pareigos tyrime)

Nėra

10. Informacija apie dalyvavimą Geros klinikinės praktikos mokymuose (nurodoma mokymų data ir sertifikata išdavusi įstaiga) 2017 04 08, VŠĮ Biomedicinos etikos ir teisės institutas

2 priedas. Leidimas atlikti biomedicininį tyrimą



VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETAS
Viešoji įstaiga, Universiteto g. 3, LT-01513 Vilnius, tel. (8 5) 268 7001, faks. (8 5) 272 8646, el. p. infor@cr.vu.lt.
Duomenys kaupiami ir saugomi Juridinių asmenų registre, kodas 211950810.
Fakulteto duomenys: M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101 Vilnius, tel. (8 5) 239 8701, (8 5) 239 7800, faks. (8 5) 239 8705,
el. p. mf@mf.vu.lt
VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101 Vilnius, tel. (8 5) 268 6998, el. p. rbtek@mf.vu.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2017-07-04 Nr.158200-17-928-442

Tyrimo pavadinimas:

Imunologiniai atvirų ir laparoskopinių prostatos vėžio operacijų skirtumai

Protokolo Nr.:	1
Versija:	1.1
Data:	2017-06-12
Informuoto asmens sutikimo forma:	1.1 2017-06-12
Pagrindinis tyrėjas:	Feliksas Jankevičius
Įstaigos pavadinimas: Adresas:	Nacionalinis vėžio institutas Santariškių g. 1, Vilnius
Leidimas galioja iki:	2022-07

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto posėdžio (protokolas Nr. 158200-2017/07), vykusio 2017 m. liepos 4 d. sprendimu.

Pirmininkas



 Saulius Vosylius

3 priedas. Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos leidimas



VALSTYBINĖ DUOMENŲ APSAUGOS INSPEKCIJA

Nacionaliniam vėžio institutui
Santariškių g. 1, LT-08660 Vilnius
(per E. pristatymo informacinę sistemą
ir el. p. paulius.bosas@nvi.lt)

SPRENDIMAS DĖL LEIDIMO NACIONALINIAM VĖŽIO INSTITUTUI ATLIKTI ASMENS DUOMENŲ TVARKYMO VEIKSMUS

2017 m. spalio 11 d. Nr. 2R-6399 (2.6-1.)
Vilnius

Valstybinė duomenų apsaugos inspekcija, išnagrinėjusi Nacionalinio vėžio instituto 2017-09-19 raštu Nr. R3-1161 pateiktą Pranešimą Nr. 1 dėl išankstinės patikros (toliau – Pranešimas) dėl asmens duomenų tvarkymo mokslinio medicininio tyrimo tikslu ir 2017-10-06 raštu Nr. R3-1252 pateiktus patikslinimus (Inspekcijoje gauta 2017-09-20, reg. Nr. 1R-6871 ir 2017-10-06, reg. Nr. 1R-7366),

n u s t a t ė,

kad Pranešime ir patikslinimuose nurodyti asmens duomenų tvarkymo veiksmai atitinka Lietuvos Respublikos asmens duomenų teisinės apsaugos įstatyme nustatytus asmens duomenų tvarkymo ir duomenų subjektų teisių įgyvendinimo reikalavimus bei numatytos tinkamos organizacinės ir techninės duomenų saugumo priemonės.

Valstybinė duomenų apsaugos inspekcija, vadovaudamasi Lietuvos Respublikos asmens duomenų teisinės apsaugos įstatymo 33 straipsniu, Išankstinės patikros atlikimo taisyklių, patvirtintų Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos direktoriaus 2016 m. birželio 22 d. įsakymu Nr. IT-23(1.12.E), 12 ir 19.2 punktais,

n u s p r e n d ž i a

Nacionaliniam vėžio institutui išduoti leidimą atlikti Pranešime ir patikslinimuose nurodytą asmens duomenų apie sveikatą tvarkymo mokslinio medicininio tyrimo „Imunologiniai atvirų ir laparoskopinių prostatos vėžio operacijų skirtumai“, tikslu veiksmus.

Šis sprendimas Administracinių bylų teisenos įstatymo nustatyta tvarka per vieną mėnesį nuo jo įteikimo dienos gali būti skundžiamas Vilniaus apygardos administraciniam teismui.

Direktorius pavaduotoja,
atliekanti direktoriaus funkcijas



Dijana Šinkūnienė



V. Perednienė, tel. (8 5) 2197279, el. p. vanda.peredniene@ada.lt

Biudžetinė įstaiga
A. Juozapavičiaus g. 6,
09310 Vilnius

Tel. (8 5) 279 1445
Faks. (8 5) 261 9494
El. p. ada@ada.lt

Duomenys kaupiami ir saugomi
Juridinių asmenų registre
Kodas 188607912

4 priedas. Informuoto asmens sutikimo forma

PATVIRTINTA
Lietuvos bioetikos komiteto
biomedicininii tyrimu ekspertu grupes
2016 m. lapkricio 15 d. sprendimu

Informuoto asmens sutikimo forma, versija Nr. 1.1 , data: 2017-06-12

INFORMUOTO ASMENS SUTIKIMO FORMA

Biomediciniotyrimo pavadinimas: Imunologiniai atviru ir laparoskopiniu prostatos vezio operaciju skirtumai.

Protokolo Nr.: 1.1

Uzsakovas:Nacionalinis vezio institutas

Adresas: Santariskiu I, Vilnius Tel.: +37052786700El. pastas:administracija@nvi.lt

Uzsakovo atstovas: Saulius Cicenas

Atsakingas tyrejas¹: Feliksas Jankevičius

Tyrimo centro pavadinimas: Nacionalinis vezio institutas

Adresas: Santariskiu I, Vilnius Tel.: +37052786700 El.
pastas:administracija@nvi.lt

1. Kokia šio dokumento paskirtis?

Šioje formoje pateikiama Jums skirta informacija apie biomedicininį tyrimą, aptariamos tyrimo atlikimo priezastys, mokslinio tyrimo proceduros, nauda, rizika, galimi nepatogumai ir kita svarbi informacija. Jei nusprešite dalyvauti, prašysime Jūsų pasirašyti šią sutikimo formą, kuria sutinkate tyrimo metu vykdyti gydytojo tyrėjo ir tyrimo komandos nurodymus. Pasirašydami šį dokumentą, sutinkate dalyvauti moksliniame tyrime. Neskubėkite ir atidžiai perskaitykite šį dokumentą, jei nesupratote kokio nors žodžio ar teiginio, visus iškilusius klausimus būtinai užduokite tyrimo gydytojui ar kitiems tyrimo komandos nariams. Prieš priimdami sprendimą, galite pasitarti su šeimos nariais, draugais ar savo gydytoju.

¹ Jeigu tyrėjo adresas nesutampa su tyrimo centro adresu – nurodykite abu

2. Kodėl atliekami biomedicininiai tyrimai?

Svarbu suprasti, kad nors biomedicininio tyrimo metu Jums bus skiriami vaistiniai preparatai, atliekami sveikatos patikrinimai ar medicininės procedūros, biomedicininis tyrimas iš esmės skiriasi nuo įprastos (kasdienės) klinikinės praktikos. Įprastos (kasdienės) klinikinės praktikos tikslas yra Jus (t. y. konkretų asmenį, pacientą) išgydyti ir/ar pagerinti Jūsų sveikatos būklę. Pagrindinis biomedicininio(mokslinio) tyrimo tikslas – gauti naujų medicinos mokslo žinių, kurios ateityje padėtų kitų šia liga sergančių pacientų sveikatai. Kitaip tariant, pagrindinis šio tyrimo tikslas nėra tiesioginė nauda Jūsų sveikatai.

3. Kodėl atliekamas šis tyrimas?

Šio tyrimo tikslas – įvertinti ligonių, operuotų dėl prostatos vėžio atviru ir laparoskopiniu būdu, imuninės sistemos pokyčius bei jų sąsajas su ligos eliminaciją atspindinčių žymenų (miRNR, meDNA, ARV, PSA) dinamika.

Neaptikome duomenų, ar skiriasi ligonių, operuotų dėl prostatos vėžio atviru ir laparoskopiniu būdu, imuninės sistemos pokyčiai, ar šių pokyčių mastas priklauso nuo klinikinių PV rodiklių (Glaeson, stadijos, rezekcinio krašto, N+), kaip imuninės sistemos pokyčiai įtakoja prostatos vėžio recidyvavimą, biocheminį atkritį, laisvo nuo PSA progresavimo išgyvenamumo trukmę. Klinikinius prostatos vėžio parametrus papildžius imunologinių ir genetinių (miRNR, meDNA, ARV) pokyčių parametrais, tikimės tiksliau prognozuoti, kam bus biocheminis atkritis. Tai leis nuspręsti, kam geriau skirti ankstyvą adjuvantinę spindulinę terapiją, nustatčius pT3N0M0 prostatos vėžį.

4. Kokie asmenys pasirenkami dalyvauti šiame tyrime?

Kviečiame Jus dalyvauti biomediciniame vaistinio preparato tyrime, nes sergate prostatos vėžiu ir atitinkate pagrindinius išvardytus įtraukimo į šį tyrimą kriterijus. Pagrindiniai įtraukimo į šį tyrimą kriterijai yra šie:

1. Vyrai, kuriems nustatyta prostatos cT1-3, N0-1, M0.
2. Amžius: 45-75 metai.
3. ECOG ≤ 2
4. Kompensuota kardiovaskulinė, pulmonalinė, hematologinė, renalinė būklė.

5. Kas atlieka/užsako šį biomedicininį tyrimą?

Šio biomedicininio tyrimo užsakovas yra Nacionalinis vėžio institutas. Šiam tyrimui atlikti reikalingas lėšas skirs Nacionalinis vėžio institutas.

6. Tikimybė patekti į skirtingas tiriamųjų grupes ir dalyvavimo šiose grupėse ypatybės.

Šiame tyrime dalyvaujantys asmenys atsitiktinai paskyrus bus suskirstyti į dvi grupes – viena bus operuojama atviru būdu, kita – laparoskopiniu. Kiekvienas tyrimo dalyvis turi vienodą galimybę (50 proc.) patekti į vieną iš grupių.

7. Kiek truks Jūsų dalyvavimas šiame tyrime?

Bendra tyrimo trukmė –trys mėnesiai, tačiau tai nesukels jums papildomų nepatogumų. Tyrimai ir apklausos bus atliekamos tokiu pat metu ir remiantis tais pačiais tyrimo ir gydymo protokolais, kaip kitų tyrime nedalyvaujančių prostatos vėžiu sergančių operuojamų ligonių, tik kraujas, šlapimas ir operacijos metu pašalinti audiniai bus tiriami ir kitų (imunologinių ir/ar genetinių) parametru požiūriu.

8. Kokiose šalyse bus vykdomas šis tyrimas?

Tyrimas bus atliekamas Lietuvoje.

9. Kiek tiriamųjų dalyvaus numatyta šiame tyrime?

Tikimasi, kad šiame biomediciniame tyrime dalyvaus 200 žmonių.

10. Ką Jums reikės daryti?

Sutikus dalyvauti tyrime, Jums nereikės atvykti ir papildomai atlikti jokių diagnostinių ar gydomųjų procedūrų. Atvykus pooperaciniam sekimui dėl prostatos vėžio, kuris vykdomas ir nedalyvaujantiems tyrime ligoniams, prašysime Jūsų leisti šio tyrimo tikslais papildomai iš venos paimti nedidelį kiekį kraujo ir papildomai pasišlapinti šlapimo ištyrimui.

Šio biomedicininio tyrimo kraujo ir šlapimo mėginiai bus imami:

1. Stacionarizavus tiriamąjį operacijai dieną prieš operaciją: CD4+, CD8+, NK, Treg, IFN γ , TNF α , IL-6, IL-8; MDSC ; miRNR, meDNR, AR-V nustatymui.
 2. Pirmą pooperacinę dieną: CD4+, CD8+, NK, Treg IFN γ , TNF α , IL-6, IL-8; MDSC; miRNR, meDNR, AR-V nustatymui.
 3. Septintą pooperacinę dieną: CD4+, CD8+, NK, Treg, IFN γ , TNF α , IL-6, IL-8; MDSC; miRNR, meDNR, AR-V; CRB nustatymui.
 4. Trisdešimtą pooperacinę dieną ligoniui atvykus ambulatoriškai PSA pooperacinei kontrolei, bus imami ir tyrimai šiam biomedicininiam tyrimui: CD4+, CD8+, NK, Treg, IFN γ , TNF α , IL-6, IL-8; miRNR, meDNR, AR-V nustatymui.
 5. Po 90 dienų nuo operacijos ligoniui atvykus ambulatoriškai pooperacinei PSA kontrolei, ligoniui bus paimti ir kraujo tyrimai šiam biomedicininiam tyrimui : CD4+, CD8+, NK, Treg, IFN γ , TNF α , IL-6, IL-8 nustatymui.
- Tai bus paskutiniai su biomedicininio tyrimu susiję kraujo mėginiai. Tyrimas truks apie 91 dieną (galima 3 dienų paklaida, dėl švenčių ar savaitgalių). Po to Jūs būsite stebimas dar 5 metus jau ne šio biomedicininio tyrimo rėmuose. Jums pagal prostatos vėžio pooperacinio stebėjimo protokolą, kaip ir šiame tyrime nedalyvaujantiems ligoniams, bus atliekamas PSA ir DRT (prostatos apčiuopa) po 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60 mėnesių.

Užrašyta informacija bus anoniminė, remiantis ja nebus įmanoma nustatyti Jūsų tapatybės.

Prašome leisti naudotis Jūsų medicininiais dokumentais (ligos istorija, ambulatorine kortele), kuriais remiantis bus renkami duomenys apie gydymo eigą ir taktiką, ligos vystymąsi po gydymo.

11. Ar dalyvavimas biomediciniame tyrime Jums bus naudingas? / Kokios naudos galite tikėtis dalyvaudami šiame tyrime?

Tyrime nagrinėjamas chirurginio/imuninio streso klausimas yra aktualus todėl, kad nėra aišku, kodėl operuojant net ankstyvų stadijų prostatos vėžį, daliai ligonių liga atsinaujina ir/ar plinta (progresuoja) toliau. Mechanizmai, skatinantys progresavimą po operacijos, gali priklausyti nuo naviko agresyvumo ir ligo imunitinės sistemos būklės. Tikėtina, tam įtakos turi chirurginio streso sukeltos imunitinės spragos. Mes tikimės, kad šio tyrimo metu papildomai ištyrus imunologinius ir genetinius parametrus, taps aišku, kurie ligoniai po operacijos turi ligos progresavimo riziką ir kuriems reiklaingas papildomas spindulinis gydymas. Nustačius, kad imunitinė sistema atsistatė po operacijos, bus aišku, kada galima pradėti chemoterapiją ligoniams, kuriems ji indikuotina. Kadangi tyrimais jau nustatyta, kad narkozė ir pooperaciniu periodu nuskausminimui naudojami narkotikai (opiatai) slopinina imunitinę sistemą, šio tyrimo metu bus taikoma narkozė, neslopinti imunitinės sistemos (propafoliu), ir pooperacinis nuskausminimas, kuris neslopina imunitinės sistemos. Tikimės, kad dalyvavimas tyrime, sumažins prostatos vėžio progresavimo riziką ir pagerins ligonių išgyvenamumą.

12. Kokia su dalyvavimu šiame tyrime susijusi rizika ir nepatogumai?

Dalyvaudami šiame tyrime galite patirti nepatogumų, tokių kaip tyrimo klausymų pildymas. Be to, bus atliekamos tyrimo procedūros, kurios gali sukelti nemalonių pojūčių, nors jos atliekamos ir nedalyvaujantiems tyrime ligoniams : paėmus kraują gali būti juntamas skausmas arba susiformuoti kraujosruvos, retais atvejais kilti infekcijų;

13. Jei atsitiktų kas nors negero? (Informacija apie draudimą)

Jūs turite teisę į žalos sveikatai ir su tuo susijusios neturtinės žalos, patirtos dalyvaujant šiame tyrime, atlyginimą.

Sveikatos priežiūros įstaiga yra sudariusi draudimo sutartį, kurioje numatytas žalos, galinčios atsirasti šio biomedicininio tyrimo metu, atlyginimas.

Su draudimo taisyklėmis galite susipažinti tyrimo vietoje, kreipdamiesi į gydytoją tyrėją. Jei manote, kad tyrimo metu patyrėte žalą, taip pat kreipkitės į gydytoją tyrėją.

14. Ar galėsite nutraukti dalyvavimą tyrime?

Jei nuspręsite pasitraukti iš tyrimo šiam nepasibaigus, tyrėjas pateiks ir paprašys parašyti laisvos formos atsisakymo prašymą arba užpildyti atsisakymo formą.

Norėtume atkreipti dėmesį, kad šio tyrimo rezultatai, t. y. tyrimo dokumentuose iki Jūsų sutikimo dalyvauti biomedicininiam tyrime atšaukimo įrašyti duomenys nebus sunaikinti, nebent Jūs pats to pareikalausite. Tyrimai, kurie atliekami pagal NVI patvirtintą prostatos vėžio protokolą naikinami nebus, nes jie yra svarbūs jūsų ligos tolimesniam stebėjimui ir gydymui.

Jeigu dėl pablogėjusios sveikatos būklės negalėsite spręsti apie tolesnes galimybes dalyvauti tyrime, į Jūsų norą atšaukti sutikimą dalyvauti tyrime bus atsižvelgta, bet teisiškai šį sprendimą priims sutuoktinis, jeigu jo nėra – vienas iš tėvų, pilnamečių vaikų arba kitas teisėtas (Jūsų) atstovas.

Jūs turite teisę nesutikti, kad biomedicininio tyrimo tikslu toliau būtų naudojama Jūsų sveikatos informacija, gauta šio biomedicininio tyrimo metu².

15. Jūsų dalyvavimo tyrime nutraukimo aplinkybės ir kriterijai

Jei nesilaikysite gydytojo tyrimo nurodymų, Jūs daugiau nebegalėsite dalyvauti tyrime.

Tyrimo gydytojas ar užsakovas turi teisę bet kuriuo metu sustabdyti tyrimą ar Jūsų dalyvavimą jame.

16. Kokias pasirinkimo galimybes turėsite, jeigu nesutiksite dalyvauti šiame tyrime arba atšauksite sutikimą jame dalyvauti?

Tyrimo dalyvaudami savanoriškai, todėl turite teisę atsisakyti, o pradėjęs galite bet kada iš jo pasitraukti.

Jei sprendimas nedalyvauti tyrime Jūsų sveikatai keltų pavojų, gydytojas tyrimą paaikškins, kaip tokiu atveju geriausia elgtis.

Jūsų sprendimas atsisakyti dalyvauti ar nutraukti dalyvavimą tyrime nedarys jokios įtakos teikiamai įprastinei sveikatos priežiūrai.

Jei nuspręsite nedalyvauti šiame tyrime, gydytojas paskirs įprastą ligos gydymą, atsižvelgdamas į visas susijusias aplinkybes – Jūsų amžių, kitas ligas, bendrą sveikatos būklę ir kt. Gydytojas tyrimą aptars su Jumis visų galimų pasirinkimų naudą ir riziką.

17. Ar dalyvaudami šiame tyrime patirsite kokių nors išlaidų?

Dalyvaudami šiame tyrime papildomų išlaidų nepatirsite.

18. Ar Jūsų asmens duomenys bus konfidencialūs?

Biomedicininį tyrimą atliekant gauta sveikatos informacija, leidžianti nustatyti asmens tapatybę, yra konfidenciali ir gali būti teikiama tik pacientų teises ir asmens duomenų apsaugą reglamentuojančių įstatymų nustatyta tvarka.

Duomenų valdytojas yra Nacionalinis vėžio institutas, įmonės kodas: 111959420, adresas: Santariškių g. 1, Vilnius LT-08660.

Siekiant apsaugoti duomenų konfidencialumą, Jums bus suteiktas specialus kodas, kuris bus nurodomas visuose dokumentuose, išskyrus sutikimo formą ir įprastinius sveikatos priežiūros dokumentus (šiuose dokumentuose bus nurodyti Jūsų asmeniniai duomenys). Sąrašą, kuriame Jūsų vardas ir pavardė susiejami su kodu, saugos pagrindinis tyrėjas seife, į kurį prieiga turi tik jis ir įgaliotas tyrėjas.

Kompiuteriai, kuriuose saugomi elektroniniai tyrimo dokumentai ir duomenys, apsaugoti slaptažodžiu. Prisijungimo kodus žino tik tyrėjai, šie duomenys atnaujinami kas mėnesį.

²Taikoma, kai tiriamasis Biomedicininių tyrimų etikos įstatymo 7 straipsnio 6 dalyje nustatyta tvarka buvo įtrauktas be sutikimo.

Dokumentai saugomi rakinamoje spintoje, kurios raktą turi tik tyrėjai.

Jei sutiksite dalyvauti šiame tyrime, gydytojas tyrėjas ir tyrimo darbuotojai naudos tyrimui atlikti reikalingus Jūsų asmeninius duomenis. Duomenys bus renkami remiantis Jūsų pateikta informacija, šioje bei kitose gydymo įstaigose saugomais medicininiais dokumentais, taip pat valstybės registruose ir pan. esančia informacija.

Atliekant šį tyrimą gauta ir su Jūsų sveikatos būkle nesusijusi asmeninė informacija (vardas, pavardė ar kita Jūsų asmenį identifikuojanti informacija) nelaikoma konfidencialia ir galės būti skelbiama be Jūsų sutikimo, jeigu ją paviešinusi įmanoma tiesiogiai ar netiesiogiai nustatyti Jūsų tapatybę.

19. Kas ir kokių tikslų galės susipažinti su Jūsų asmens duomenimis?

Pasirašydami šią formą sutinkate, kad tyrimo centro tyrėjai, tyrimus kontroliuojančios institucijos (tokios kaip Valstybinė vaistų kontrolės tarnyba, etikos komitetai) ir įgalioti tyrimo užsakovo (Nacionalinis vėžio institutas) tyrimą prižiūrintys asmenys galės susipažinti su visa šio tyrimo tikslais apie Jus surinkta informacija. Kitiems asmenims ar įmonėms bus teikiami tik užkoduoti sveikatos duomenys, neleidžiantys tiesiogiai nustatyti Jūsų tapatybę. („Užkoduoti“ reiškia, kad dokumentuose bus nurodomas ne Jūsų vardas ir pavardė, o specialus numeris, kurį susieti su Jūsų asmeniu galės tik gydytojas tyrėjas).

Surinktus duomenis tyrimo gydytojai naudos šio ir kitų klinikinių tyrimų tikslais.

Užkoduoti Jūsų kraujo mėginiai bus siunčiami į kitų šalių tyrimų laboratorijas. Jūsų tyrėjas turi šių laboratorijų sąrašą ir jų kontaktinę informaciją – jei norėtumėte susipažinti su šia informacija kreipkitės į savo tyrėją.

Jūs turite teisę sužinoti, kokie duomenys buvo surinkti, taip pat galite reikalauti ištaisyti, sunaikinti ar sustabdyti savo asmens duomenų tvarkymo veiksmus, jei nuspręsite pasitraukti iš tyrimo anksčiau numatyto laiko. Tada tyrėjai apie Jus neberinks naujos informacijos, bet negalės sunaikinti iki tol surinktų duomenų.

20. Kiek laiko bus saugomi tyrimo metu surinkti duomenys ir kas už tai bus atsakingas?

Visa informacija bus užrašoma specialiai klinikiniam tyrimui sudaromuose elektroniniuose ir popieriniuose dokumentuose ir tyrimo centre saugoma 25 metus pasibaigus tyrimui. Tiek laiko saugoti duomenis įpareigoja teisės aktai. Vėliau Jūsų asmens duomenys bus sunaikinti tyrimo centro nustatyta tvarka. Už dokumentų saugojimą tyrimo centre bus atsakinga sveikatos priežiūros įstaiga kartu su pagrindiniu tyrėju.

21. Kas įvertino šį biomedicininį tyrimą? / Į ką kreiptis, jeigu iškiltų klausimų?

Dėl savo kaip tyrimo dalyvio teisių galite kreiptis į leidimą atlikti šį biomedicininį tyrimą išdavusį Lietuvos bioetikos komitetą, Vilniaus g. 16, LT-01402 Vilnius, tel. (8-5) 2124565, el. paštas: lbec@bioetika.sam.lt.

Dėl savo kaip tyrimo dalyvio teisių galite kreiptis į leidimą atlikti šį biomedicininį tyrimą išdavusį Vilniaus regioninį biomedicininį tyrimų etikos komitetą, M. K. Čiurlionio g. 21/27 (231 kab.), LT-03101, Vilnius, tel. (8-5) 2686998, el. paštas: rbtek@mf.vu.lt.

22. Kita svarbi informacija, kuri gali turėti įtakos Jūsų apsisprendimui sutikti ar atsisakyti dalyvauti biomedicininiam tyrimo.

SUTIKIMAS DALYVAUTI BIOMEDICININIAME TYRIME

Aš perskaičiau šią Informuoto asmens sutikimo formą ir supratau man pateiktą informaciją.

Man buvo suteikta galimybė užduoti klausimus ir gavau mane tenkinančius atsakymus.

Supratau, kad galiu bet kada pasitraukti iš tyrimo, nenurodydama(s) priežasčių³.

Supratau, kad asmuo, dėl kurio dalyvavimo biomediciniame tyrime aš duodu sutikimą, gali bet kada pasitraukti iš tyrimo, nenurodydamas priežasčių.⁴

Supratau, kad norėdama(s) atšaukti sutikimą dalyvauti biomediciniame tyrime, raštu turiu apie tai informuoti tyrėją/kitą jo įgaliotą biomedicininį tyrimą atliekantį asmenį.

Patvirtinu, kad turėjau užtektinai laiko apsvarstyti man suteiktą informaciją apie biomedicininį tyrimą.

Supratau, kad dalyvavimas šiame tyrime yra savanoriškas.

Patvirtinu, kad sutikimą dalyvauti šiame biomediciniame tyrime duodu laisva valia.

Leidžiu naudoti asmens duomenis ta apimtimi ir būdu, kaip nurodyta Informuoto asmens sutikimo formoje.

Patvirtinu, kad gavau Informuoto asmens sutikimo formos egzempliorių, pasirašytą tyrėjo/ kito jo įgalioto biomedicininį tyrimą atliekančio asmens.

Asmuo (ar kitas sutikimą turintis teisę duoti asmuo)

_____	_____	_____	_____	_____	_____
vardas	pavardė	atstovavimo pagrindas	parašas	MMMM-mm-dd pasirašymo data	:_: pasirašymo laikas

Patvirtinu, kad suteikiau informaciją apie biomedicininį tyrimą aukščiau nurodytam asmeniui.

Patvirtinu, kad asmeniui (ar kitam sutikimą duoti turinčiam teisę asmeniui) buvo skirta pakankamai laiko apsispręsti dalyvauti biomediciniame tyrime, atsižvelgiant į biomedicininio tyrimo pobūdį, taip pat įvertinus kitas aplinkybes, galinčias daryti įtaką priimamam sprendimui.

Aš skatinau asmenį (ar kitą sutikimą turintį teisę duoti asmenį) užduoti klausimus ir į juos atsakiau.

Tyrėjas ar kitas jo įgaliotą biomedicininį tyrimą atliekantis asmuo

_____	_____	_____	_____	_____	_____
vardas	pavardė	pareigos tyrime	parašas	MMMM-mm-dd pasirašymo data	:_: pasirašymo laikas

³Jei sutikimą dalyvauti tyrime duoda pats asmuo

⁴Jei sutikimą dalyvauti tyrime duoda kitas asmuo

SANTRAUKA (SUMMARY)

ABBREVIATIONS

CTL – cytotoxic lymphocytes,
ePSA – PSA rate of change; PSA rate of change has been proposed during this Dissertation,
HLA – Human Leukocyte Antigen,
HLA-DR – human leukocytic antigen DR subtype,
HR – High Risk,
HT – Half-life time,
LR – Low Risk,
LRP – Laparoscopic radical prostatectomy,
MDSC – Myeloid Derived Suppressor Cells,
NK – Natural killer cells,
ORP – Open radical prostatectomy,
PCa – Prostate cancer,
PSA – Prostate specific antigen,
ROC – Receiver operating characteristic – a graphic showing the relationship between the sensitivity and specificity,
RP – Radical prostatectomy,
TNF – Tumor Necrosis Factor,
Treg – Regulatory T cells.

1. INTRODUCTION

1.1. Background

Prostate cancer (PCa) is the second most common cancer diagnosis made in men and the fifth leading cause of death worldwide [1]. PCa is also known to exhibit a wide spectrum of aggressiveness, which is sometimes not easy to classify during the early stage of diagnosis. Recurrence after radical prostatectomy (RP) is not uncommon for patients with PCa, and it is highly dependent on various risk factors [2–4].

PCa involves a relatively slow-growing tumor, but it is also known to be one of the few malignancies capable of delayed recurrence [2]. The postoperative course of PCa results in biochemical recurrence (BCR), even in the low-risk (LR) group, beginning at roughly a four-year time point following RP, in ~25% of patients [3]. The cumulative risk of 10-year incidence of BCR in an intermediate-risk group is up to 32% [5]. Men with high-risk (HR) PCa present a serious clinical challenge, where surgery alone is rarely performed and intervention must be considered in the context of multimodality treatment. The proportion of PCa cases classified as HR recently increased worldwide (for example, reaching more than 20% of all PCa cases in the U.S.), and the use of RP in this population rose significantly as well [6].

Regardless of the risk category, tumor excision per se exhibits adverse systemic effects known to influence PCa treatment outcomes significantly. The surgical procedure itself leads to an increase of tumor cell release into the circulation and upregulation of adhesion molecules in target organs, resulting in facilitated metastatic spread after RP. Surgery also suppresses anti-tumor immunity, allowing circulating cells to survive [7]. The mechanisms behind activation of this surgery-induced immunological dysfunction are poorly understood. Certain evidence indicates the presence of “concomitant immunity” accompanying primary tumor growth [8]. Concomitant immunity is a unique phenomenon that elicits an immune response insufficient to destroy the primary tumor but able to prevent a secondary tumor from growing. Therefore, the excision of a primary tumor might turn into a signal provoking proliferation of micrometastases, which were dormant before surgical intervention. In fact, more than 70% of PCa patients are known to have preoperative bone marrow dissemination, regardless of stage, Gleason score, PSA, or any evidence of systemic disease [9]. The impact of surgery-provoked progression or a surgery-induced immunosurveillance profile on this early micrometastatic disease are not

known. Surgical excision also eliminates all immune cells that were fixed inside the tumorous tissue. Remarkably, these tumor-infiltrating immune cells are known to reciprocally influence systemic immunosurveillance and metastatic behavior in the preoperative period [8], meaning that tumor removal should disrupt the systemic and local immunity communication. The question arises whether this disruption might be reflected in the phenotypic alteration of peripheral blood lymphocytes. It has long been known that surgery itself has immune consequences in terms of temporary depleted numbers of T lymphocytes, B lymphocytes, natural killer (NK) cells, and HLA-DR monocytes [10,11]. Laparoscopic surgery appears to spare the immune system significantly more in these cases. Additionally, there is a growing body of evidence to suggest that the attenuation of the surgical inflammatory stress may reduce postoperative tumor recurrence or metastatic dissemination [12].

The oncological outcomes and complication rates from LRP and ORP are similar [13]. However, the comparison of immunological rearrangements between these two methods has not been investigated in PCa. PCa is a unique tumor, providing well-established criteria for postoperative follow-up by PSA. Unlike other tumor markers, PSA is organ -specific and undergoes rapid postoperative decline, with a well-detectable plateau during the one- to three-month period. We selected this timeframe to examine immunophenotype correction induced by surgery to avoid early stress-induced hormone and cytokine ejection.

Many cancers, including PCa, are known to elicit an overproduction of a range of immunocyte suppressors, including immature myeloid cells, which recently were categorized as myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) [14–17]. Tumor excision response of MDSC in PCa patients has also been reported [15]. The mechanisms of this MDSC response are closely related to a disruption of tumor and monocyte interaction. Monocytes from the blood of prostate cancer patients can fully mature to dendritic cells only after the PCa excision is accomplished [15]. In addition, the direct link between MDSC increase and the presence of a primary tumor in the abovementioned study was a specific and distinguishing immunosuppressive indicator of PCa but not colorectal cancer. A deeper insight into MDSC response to RP with regard to a risk group is needed.

1.2. Aim of the Study

The aim of the study was to assess the predictive factors of the immune system for tumor recurrence after open and laparoscopic prostatectomies.

1.3. Objectives of the Study

1. To assess and compare the dynamic of changes of immunological components following open and laparoscopic prostatectomies.
2. To assess the relationship between these changes and clinical data (Gleason score, stage, positive margin, lympho node status).
3. To assess the relationship between immunological status and the risk of biochemical recurrence.

1.4. Defended Statements

1. The patient's cellular immunoprofile signature evaluated before surgery and after is different between LRP and ORP patients as well as between PCa risk groups.
2. BCR after LRP and ORP can be predicted based on the pre-operative profile of immune cell configuration and the specific rate of PSA change in the postoperative period.

1.5. Scientific Novelty of the Study and Implementation into Clinical Practice

An innovative “drug elimination rate algorithm” has been adopted to fine-tune specific postoperative PSA management for the first time. This particular algorithm was based on bringing together halflife time and doubling time equations into one readily available equation that would also be acceptable for routine clinical use. A website option has been offered for clinicians and patients in need of rapid data processing during the follow-up postoperative period.

An innovative immunocyte-sparing anesthesia was explored during LRP and ORP surgical procedures that included a) a total intravenous anesthesia (TIVA) with propofol, b) a post-operative epidural anesthesia or local subfascial anesthesia, and c) a conventional postoperative analgesia deprived of opiate administration;

We revealed specific immunological signatures associated with LRP or ORP as well as patient risk group assessments observable prior and after surgery.

Immunophenotype rearrangements combined with ePSA patterns appeared to be an early (1 to 3 months postoperatively) and informative prognosticator indicating the likelihood of BCR in a 3-year period of postoperative follow-up.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Patients and Surgical Procedure

This study was approved by the National Committee of Biomedical Ethics Review Board (Vilnius, Lithuania, 158200-17-928-442), and written informed consent was obtained from each study participant. In total, 108 patients with PCa were enrolled. The eligibility criteria for enrollment were as follows: [1] no history of diagnosis or treatment for other malignancies, [2] no androgen deprivation therapy (ADT) or radiotherapy (RT) before surgery and 3 months postoperatively, [3] no inflammatory condition, immunosuppressive intervention, or presence of autoimmune diseases, [4] no perioperative blood transfusions, [5] preoperative and postoperative (up to 3 month) white blood cell (WBC) count less than 10,000 μl^{-1} , [6] liver enzymes, glomerular filtration rate, C-reactive protein, and bilirubin in the normal range. The clinical stage was assessed according to the 2017 TNM staging guide, prostate biopsy cores were obtained using a >10-core biopsy protocol, and preoperative PSA was measured before digital rectal examination. The biopsy and pathologic gradings were assessed according to ISUP Gleason score. The clinicopathological data of study participants are listed in Table 1.

The LRP extraperitoneal prostatectomy was performed for 63 (58.3%) patients using a five-trocar technique. The prostate-vesical junction was incised, and the vas deferens and seminal vesicles were dissected. The prostate was dissected in an antegrade fashion. The urethra was transected following a separation of the dorsal venous complex. A running suture vesicourethral anastomosis was placed. Conventional ORP was performed for 45 (41.7%) patients in a retrograde fashion extraperitoneally following a dissection of the urethra. The urethro-vesical anastomosis sutures used an interrupted stitch. Propofol total intravenous anesthesia without sevoflurane or opioid was applied to all study participants. Blood samples were collected before and at 1- and 3-month time points after radical prostatectomy (RP).

Patient follow-up included PSA measurements every 3 months for two years and then every 6 months after that. Biochemical recurrence (BCR) was defined as a PSA value of 0.2 ng/ml after RP, confirmed by at least two consecutive measurements. BCR-free survival was calculated from the date of surgery to the date of BCR diagnosis. Patients were separated into two subgroups according to their risk of progression. The high risk (HR) group was defined as having at least one of the following criteria: Gleason score >

4+3, lymph node involvement (N1), pathological stage > pT3a, or positive surgical margins. All other participants were attributed to a low-risk (LR) category.

2.2. Flow Cytometry and PSA Analysis

Blood was obtained by venipuncture and collected in BD Vacutainer® tubes containing an EDTA anticoagulant (BD Biosciences, San Jose, USA). Tubes were then rotated on a shaker until phenotypic staining procedure and flow cytometry analysis were performed (30 min-6 h post collection).

For peripheral blood analysis, 100 µl of blood was added to the four appropriate tubes and cells were processed according to the manufacturer's instructions. A total of four tubes per patient were used and stained with the following antibodies: tube 1) anti-CD56-PE/ anti-CD16-APC/ anti-CD3-FITC/ anti-CD19-BV421TM/ anti-CD45- PerCP; (BioLegend, San Diego, USA); tube 2) anti-CD25-PE/ anti-CD4-FITC/ anti-CD3-APC; anti-FoxP3-BV421TM (BioLegend, San Diego, USA); tube 3) anti-CD8a-FITC/ anti-CD69-APC/ anti-CD3-BV510TM; (BioLegend, San Diego, USA) tube 4) anti-HLA-DR-PE/ anti-CD14-FITC/ anti-CD11b-BV421TM/ anti-CD33-APC; (BioLegend, San Diego, USA). The NK cell was defined as CD3-CD16+CD56+, total MDSC were defined as CD45+ CD3- CD19- CD56- CD16- HLA-DR- CD33+ CD11b+, the Treg cell definition was CD4+CD25+FoxP3+. A total of 20 µl of each antibody was added to the appropriate tube. The blood was incubated with the antibodies for 15 min in darkness, followed by red blood cell lysis with BD FACS Lysing solution (BD Biosciences, San Jose, USA) for 15 min. in darkness. Cells were then washed twice in BD-Cell-Wash-Solution (BD Biosciences, San Jose, USA) and fixed in BD-Cell-Fix-solution (BD Biosciences, San Jose, USA) prior to data acquisition. All processed samples were then analyzed on a BD LSR II System flow cytometer (BD Biosciences, San Jose, USA). A total of 20,000 events were acquired and BD FACSDiva™ Software (BD Biosciences, San Jose, USA) was used for subset analysis. The immunophenotyping, complete blood cell count (CBC), and PSA analysis were performed from the blood samples collected at the same time points during venipuncture. The CBC blood analysis was conducted using a Sysmex NX-1000 (Sysmex Europe, Norderstedt, Germany). The PSA data from serum were obtained exploring an ultrasensitive PSA assay (sensitivity limit 0.002 ng/mL, Cobas e411, Roche Diagnostics, Risch-Rotkreuz, Switzerland).

ePSA was calculated as follows:

$$ePSA = \frac{100}{HT} = \frac{100 \times \ln(\frac{N}{M})}{\ln 2 \times (\Delta t)}$$

HT – half-life time of serum PSA in days, N = current PSA, M = previous PSA. ePSA values < 0 appear if PSA is decreasing and > 0 if increasing. Δt = time interval, expressed in days between two PSA measurements. The ePSA metric is “percent/day” reflecting the growth or elimination fraction.

The PSA value adjustment to a specific sampling day (e.g., day 30) was done using the equation:

$$PSA_{day30} = PSA_M \times 2^{(M-30)/HT}$$

PSA_{day30} = PSA value as if it was measured on day 30, PSAM = actual PSA value at M representing a “one month” time point, M = number of days from RP to PSA measurement, HT = half-life time of PSA from RP to M time point. PSA_{day91} was used to adjust values to represent a “three month” time point.

The statistical analysis of the data was performed using IBM-SPSS Statistics 21 (SPSS, Inc., Chicago, USA). We used Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov tests to examine if a variable is normally distributed. However, the parametric test was misled because the assumption of normality was not satisfied. We used nonparametric tests. To compare data of one kind of immuno-cells in the timeline before and three months after operation, we used the paired samples Wilcoxon test. To compare preoperative data between operations or risk groups, we used an unpaired nonparametric Mann-Whitney test. Data were summarized by frequency and percentage for categorical variables and by median and range for continuous variables. All statistical tests were two-sided and differences were considered statistically significant when $p < 0.05$.

3. RESULTS

3.1. Patient Risk Group Assessment

To assess the relationship between changes in the number of immune cells and clinical data of prostate cancer (Gleason score, stage, resection margins, lymph node status, PSA), we stratified clinical data according to risk groups. High- and very high-risk patients exhibited at least one of the following criteria: pT3, Gleason score > 4+3, N1, positive margins, PSA > 20 ng/ml.

Patients at the intermediate and low risk groups had at least one of the following criteria: pT2, Gleason score < 4+3, N0, negative margins, PSA < 20 ng/ml. The clinicopathological data of study participants are listed in Table 1.

Table 1. Clinicopathological characteristics of patients.

Patient characteristics		
No of patients (%)		108 (100%)
Age (years)		
	<61	40 (37.0%)
	61-65	29 (26.9%)
	>65	39 (36.1%)
Preoperative PSA (ng/ml)		
	<4	15 (13.9%)
	4-10	71 (65.7%)
	>10	22 (20.4%)
White blood cells (k/μl)		6.02 (5.1-8.0)
Lymphocytes (k/μl)		2.12 (1.6-2.7)
Tumor characteristics		
	Extracapsular extension	28 (25.9%)
	Seminal vesical invasion	12 (15.7%)
	Lymph node involvement	5 (4.6%)
pT stage		
	pT2	78 (72.2%)
	pT3	30 (27.8%)
Gleason score		
	Grade 1 [\leq 6]	16 (14.8%)
	Grade 2 [3+4]	80 (74.1%)
	Grade 3/4 [\geq 4+3]	12 (11.1%)
Postoperative risk stratification		
	Low and intermediate (LRG)	64 (59.3%)
	High and very high (HRG)	44 (40.7%)
Prostatectomy applied		
	Open	45 (41.7%)
	Laparoscopic	63 (58.3%)

3.2. Clinical Variables and Postsurgical PSA Kinetics

During the median follow-up time of 32 months, BCR occurred in 13 out of 95 patients (13.7%); 12 patients with postoperative early RT without BCR and 1 patient with primary lung cancer were excluded from further evaluation. A significant difference of BCR-free survival was observed comparing HR vs. LR patients (Fig 1A, log rank $p < 0.001$) and patients with pT2 vs. pT3 (Fig 1B, log rank $p < 0.001$) and Gleason scores 3+3 vs. 3+4 vs $> 4+3$ (Fig1C, log rank test $p < 0.001$). There was no significant difference between BCR-free survival of patients operated by ORP or LRP (Fig 1D, log rank $p = 0.33$).

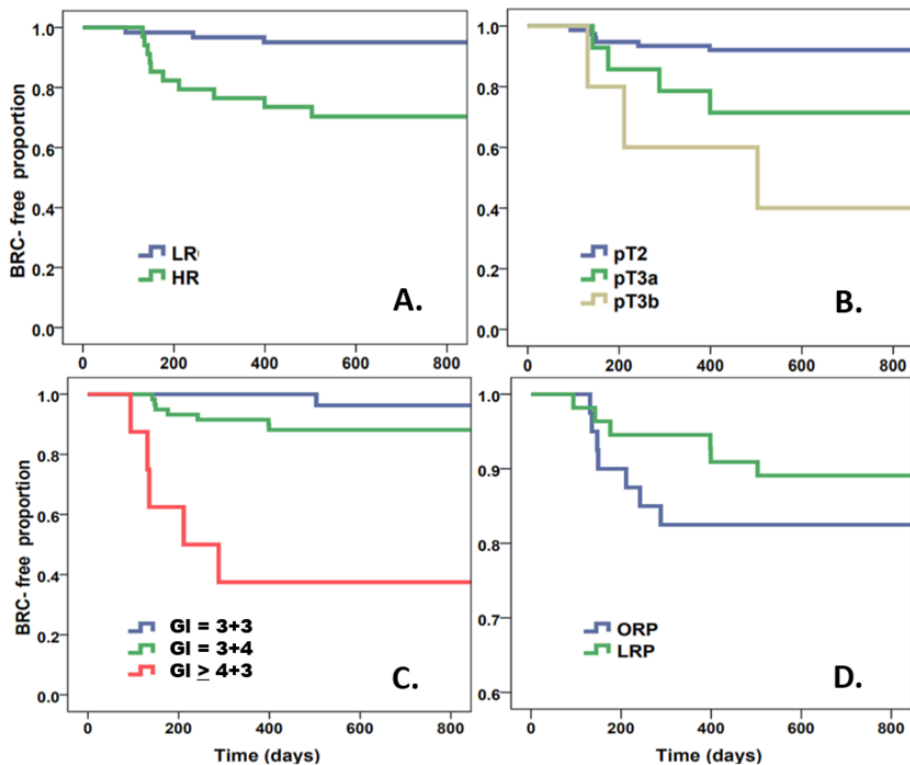


Fig 1. Kaplan-Meier survival curve of biochemical recurrence-free survival of postoperative patients according to risk (low risk versus high risk) (A), pathological status (B), Gleason score (C), surgical method LRP vs ORP (D). Stratification by a surgical method showed no significant difference between methods applied (log rank $p = 0.33$).

Tumor excision resulted in a significant PSA decline. Preoperative and postoperative PSA values in the LR and HR patient groups are shown in Table 2. Postoperative PSA in 25 (23.1%) patients at 1-month time was lower than 0.02 ng/ml, whereas 81 (75%) patient remained at a PSA level above or equal to 0.02 ng/ml. At three months, 61 (56.5%) patient exhibited PSA values below 0.01 ng/ml, whereas 43 (39.8%) patients displayed values above or equal to 0.01 ng/ml. A PSA value below 0.01 ng/ml during the one-to-three-month period postoperatively is indicative of favorable surgical treatment outcomes.

In addition to absolute PSA values, we attempted to explore the kinetic PSA decay parameter and compare it to BCR occurrence. The rate of PSA decline was estimated by half-life time (HT) of PSA decay (table 2). The PSA decline rate was similar between HR and LR patients at 1-month time postoperatively. A postoperative comparison PSA rates between HR and LR patients in the interval between 1 month and 3 months revealed significant differences between these two groups. The PSA values continued to decline in the time interval between 1 month and 3 months in the LR group, whereas a significant slow-down or rebound of PSA values were observed in the HR group (negative HT values in table 2 are indicative of PSA rebound). The HT value is known to hold a mathematical drawback when the curve is flattening or changing direction (PSA decline vs PSA increase for the same patient). Therefore, we used ePSA values [18] to further evaluate PSA kinetics and its relationship to BCR in the two risk groups. The ePSA index specifies a percentage of PSA change per day, with positive values indicating a PSA rise and negative values indicating a PSA decline. Calculated ePSA value at the interval between one and three months was $-2.8 \pm 1.54\% \text{ d}^{-1}$ (range from $-0.35\% \text{ d}^{-1}$ to $+0.35\% \text{ d}^{-1}$, median $-3.19\% \text{ d}^{-1}$) for the LR group versus $+2.9 \pm 0.30\% \text{ d}^{-1}$ (range from $-0.17\% \text{ d}^{-1}$ to $+0.06\% \text{ d}^{-1}$, median $-3.48\% \text{ d}^{-1}$) for the HR group. Thus, in the interval of one to three months, the tendency of PSA rebound, or at least a slowdown of decline, was more pronounced in the HR patient group (Fig. 2 A, B, table 2). The cut-off level of $\text{ePSA} \geq -2.0\% \text{ d}^{-1}$ for predicting BCR was $\text{AUC} = 0.85$ (95% CI, 0.76 – 0.94) (Fig 1C).

3.3. Immune Signature of Operable PCa

The change in immunocyte phenotype was rather modest as compared to PSA decline. The effect of RP on the immunophenotype rearrangement is shown in Table 3 and Fig 3. Tumor excision resulted in T cell (CD3+) increase ($p < 0.001$) in the LR group, but no effect was seen in the HR group

three months after RP ($p = 0.11$). This T cell increase was associated with the CD8+ but not CD4+ compartment, resulting in a significant postoperative CD4/CD8 ratio decrease in LR group. No total CD4+ or CD8+ postoperative rearrangements were observed in HR patients. The cytotoxic T cell subset CD8+CD69+ underwent a surgery-mediated increase in both the LR ($p < 0.001$) and HR ($p < 0.001$) groups.

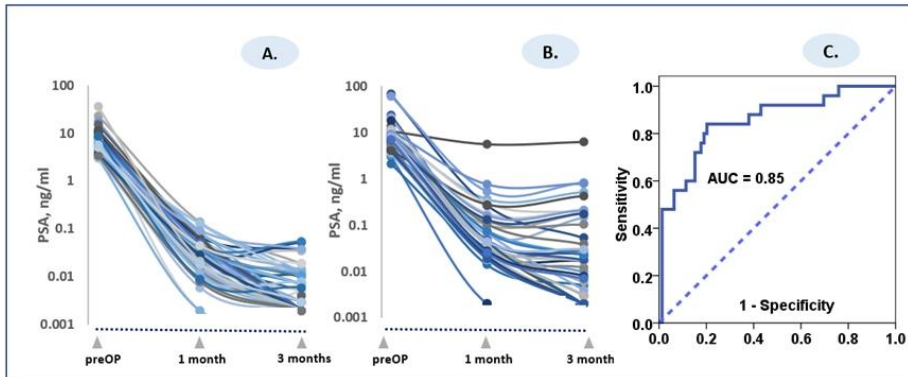


Fig 2. Individualized PSA response to radical tumor excision. “A” – low risk group. “B” – high risk group. “C” – ROC curve for predicting BCR at cut-off level of $ePSA \geq -2\% d^{-1}$. Abbreviations: PreOp – values before RP; 1-month and 3-month – PSA values at 1 month and 3 months postoperatively.

Table 2. PSA response to radical prostatectomy in low and high risk patient groups. Abbreviation: HT – half-life time of serum PSA in postoperative period). * The PSA values measured below 0.002 ng/ml (low instrument sensitivity limit) were considered as 0.0 ng/ml.

Low Risk			
	PreOp	One Month	Three Months
PSA, ng/mL			
Mean	7.19 ± 5.038	0.04 ± 0.031	0.01 ± 0.011
Range	3.03–36.00	0.0 *–0.14	0.0 *–0.055
Median	5.80	0.033	0.003
HT, days			
Mean	n.a.	4.06 ± 0.661	34.26 ± 65.143
Range	n.a.	2.79–6.62	–282.67–282.75
Median	n.a.	4.02	31.32
High Risk			
	PreOp	One Month	Three Months
PSA, ng/mL			
Mean	10.84 ± 12.886	0.23 ± 0.858	0.27 ± 1.015
Range	2.15–67.71	0.0 *–5.58	0.0 *–6.32
Median	7.4	0.044	0.018
HT, days			
Mean	n.a.	5.24 ± 4.933	–35.34 ± 329.773
Range	n.a.	2.17–35.53	–1706.13–606.10
Median	n.a.	4.17	28.77

Table 3. Comparison of immunophenotype response to radical prostatectomy in low- and high-risk patient groups.

Low Risk				
Subset	PreOp (Cells/ μ L) Median (Range)	Three Months (Cells/ μ L) Median (Range)	p Value	Trend
CD3+	1272 (930–1649)	1433 (1139–2000)	<0.001	↑
CD4+	779 (573–1207)	887 (710–1228)	0.15	≈
CD8+	503 (356–711)	692 (449–920)	<0.05	↑
Ratio CD4+ / CD8+	1.8 (1.1–2.4)	1.5 (0.9–2.3)	<0.05	↓
CD8+CD69+	185 (114–305)	196 (152–278)	<0.001	↑
Ratio CD4+ / CD8+CD69+	4.5 (2.9–6.9)	4.3 (3.0–7.0)	0.33	≈
CD4+CD25+FoxP3+	3.1 (1.6–5.6)	3.3 (1.8–5.5)	0.76	≈
CD3-CD16+CD56+	232 (113–360)	317 (176–484)	<0.05	↑
MDSC	11.9 (4.7–21.4)	12.1 (6.0–21.7)	0.12	≈
CD19+	206 (119–337)	189 (110–285)	0.07	≈
High Risk				
Subset	PreOp (Cells/ μ L) Median (Range)	Three Months (Cells/ μ L) Median (Range)	p Value	Trend
CD3+	1426 (967–2161)	1388 (1043–1852)	0.11	≈
CD4+	894 (587–1425)	803 (683–1074)	0.42	≈
CD8+	571 (342–925)	594 (405–920)	0.24	≈
Ratio CD4+ / CD8+	1.6 (1.2–2.4)	1.7 (1.0–2.1)	0.81	≈
CD8+CD69+	205 (120–373)	227 (156–308)	<0.001	↑
Ratio CD4+ / CD8+CD69+	4.3 (3.0–7.1)	3.9 (2.8–6.4)	0.07	≈
CD4+CD25+FoxP3+	4.6 (2.1–7.3)	3.9 (2.4–7.1)	0.11	≈
CD3-CD16+CD56+	211 (119–320)	328 (225–458)	0.14	≈
MDSC	12.4 (6.5–19.9)	16.2 (10.5–26.1)	<0.002	↑
CD19+	188 (124–299)	181 (147–272)	0.50	≈

Symbols in Table 3: "≈"—no significant change; "↑"—increase; "↓"—decrease.

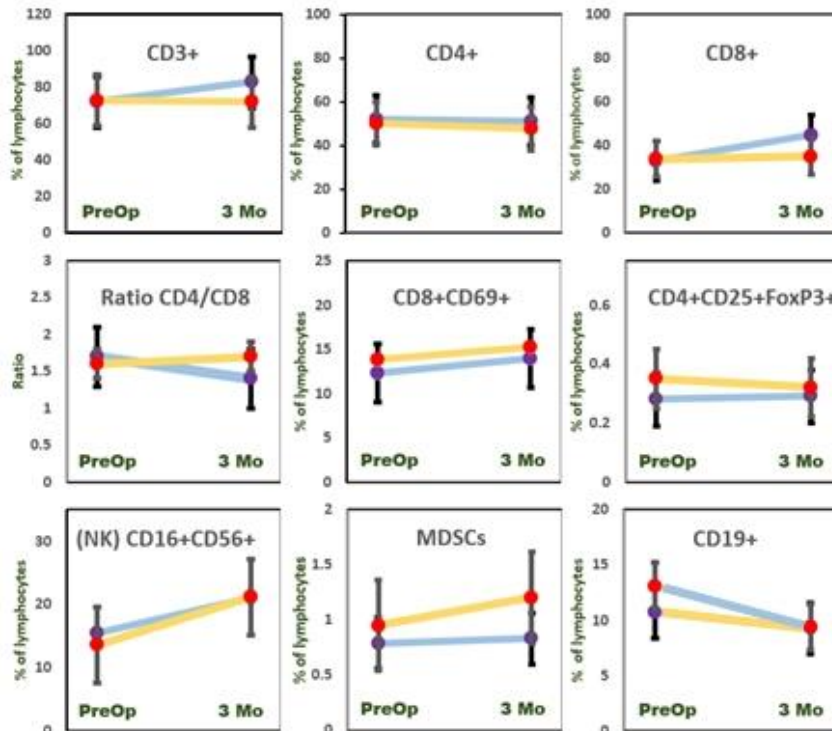


Fig 3. Prostatectomy induced percentage change of immunocyte populations. Low-risk (blue line) and high-risk (yellow line) patients were tested before surgical intervention (PreOp) and 3 months after (3 Mo). Bars represent the standard error of mean value. All values are calculated as a percent of total lymphocytes with the exception of the CD4/CD8 ratio.

Tumor removal exhibited no effects on the Treg compartment (CD4+CD25+FoxP3+) in either group. The NK cell (CD3-CD16+CD56+) was significantly recovering after RP in LR ($p < 0.05$) patients but not in HR ($p = 0.24$) study participants. The suppressor MDSCs increased postoperatively only in the HR group ($p < 0.05$). A comparison of the ORP vs. LRP technique revealed differences in immunocyte restorative capacity of the two surgical methods. The difference was observed for suppressor MDSCs, which were significantly increased following ORP, but not LRP (Table 4). The postoperative CD3-CD16+CD 56+ increase was observed in both groups: LRP and ORP. The postoperative CD3+ and CD8+ subset increase was a characteristic feature of the LRP surgical technique but not ORP. LR group following the RP procedure exhibited a more pronounced decline in the CD19+ percent in the postoperative period than seen in the HR group. With an increased CD19+ subpopulation, our research has revealed that LRP surgery reduces the CD19 percentage value more effectively during the post-operative period of 1–3 months than the ORP procedure.

Table 4. Comparison of immunophenotype response to radical prostatectomy performed by open or laparoscopic technique.

Subset	Open Radical Prostatectomy		p Value	Trend
	PreOp (Cells/ μ L) Median (Range)	Three Months (Cells/ μ L) Median (Range)		
CD3+	1280 (878–2086)	1538 (924–1956)	0.84	≈
CD4+	826 (549–1400)	839 (630–1162)	0.72	≈
CD8+	554 (298–928)	711 (423–958)	0.15	≈
Ratio CD4+ /CD8+	1.7 (1.2–2.4)	1.5 (0.8–2.0)	0.07	≈
CD8+CD69+	169 (92–347)	198 (159–261)	0.26	≈
Ratio CD4+ /CD8+CD69+	4.5 (2.9–6.9)	4.3 (3.0–7.0)	0.16	≈
CD4+CD25+FoxP3+	3.4 (2.1–6.8)	3.5 (2.1–4.8)	0.30	≈
CD3-CD16+CD56+	205 (106–329)	294 (170–441)	0.03	↑
MDSC	11.1 (4.7–16.0)	14.8 (10.5–26.1)	<0.01	↑
CD19+	188 (124–299)	180.735 (147–272)	0.74	≈
Subset	Laparoscopic Radical Prostatectomy		p Value	Trend
	PreOp (Cells/ μ L) Median (Range)	Three Months (Cells/ μ L) Median (Range)		
CD3+	1292 (964–1867)	1346 (1126–1984)	<0.05	↑
CD4+	780 (651–1282)	881 (696–1187)	0.46	≈
CD8+	538 (379–780)	576 (437–904)	<0.001.	↑
Ratio CD4+ /CD8+	1.8 (1.1–2.4)	1.7 (0.9–2.3)	0.10	≈
CD8+CD69+	209 (131–330)	216 (152–322)	0.15	≈
Ratio CD4+ /CD8+CD69+	4.0 (2.7–6.1)	4.2 (3.0–6.3)	0.10	≈
CD4+CD25+FoxP3+	2.37 (1.1–4.6)	2.5 (1.2–4.1)	0.91	≈
CD3-CD16+CD56+	223 (117–353)	359 (199–502)	<0.001	↑
MDSC	11.0 (6.4–14.9)	11.2 (7.4–21.7)	0.16	≈
CD19+	187 (119–307)	185 (131–273)	0.50	≈

Symbols in Table 4: "≈"—no significant change; "↑"—increase.

3.4. Prognostic Significance of Integrated Immunological and ePSA Values

Since both ePSA and the immunophenotype rearrangement exhibited an independent BCR prognostic criteria, an integrated two-parameter bench-

mark was also assessed in this study. ROC analysis unveiled an advantageous characteristics of combined CD4/CD8+CD69+and CD4+Fox3P+ pre-operative values alongside the integrated ePSA. Combining pre-operative CD4+Fox3P+ with ePSA appeared to be the best prognosticator of BCR following ORP with AUC-0,87; cut-off point 0.82 (specificity 83%, sensitivity 76%) (Figure 4 A). Whereas combining pre-operative CD4/CD8 CD69+ with ePSA was advantageous in predicting BCR following LRP with AUC-0, 87; cut-off point 0.72 (specificity 82%, sensitivity 88%) (Figure 4 B).

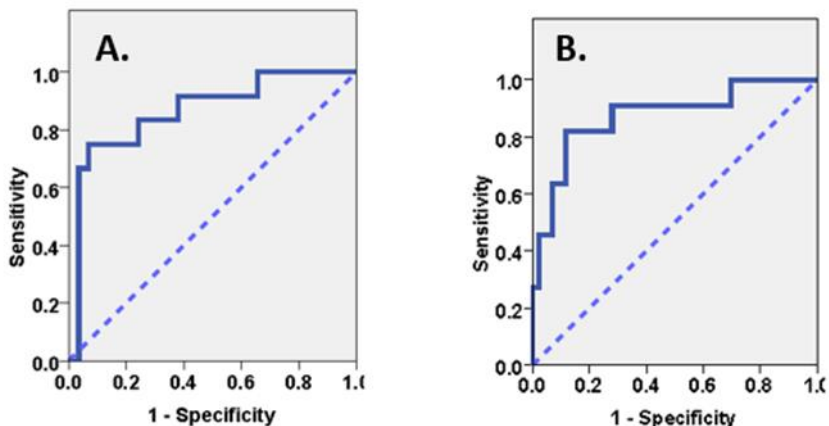


Fig 4. The combination of immunophenotype and ePSA values resulted in an increase of predictive significance of BCR. These plots display ROC curves determined by combining pre-operative CD4+ Fox3P+ with ePSA (A) and CD4/CD8 CD69+ with ePSA (B).

4. DISCUSSION

Tumor excision was accompanied by a dramatic decline in PSA and rather modest rearrangements of peripheral immune cells assessable at one and three months postoperatively. The rate of postoperative PSA decline (ePSA) did vary greatly as compared to absolute PSA values (CV numbers of ePSA were roughly 10 times lower as compared to PSA values; data not shown). This indicates that the surgical excision resulted in the elimination of a significant proportion of prostate tissue and adjacent infiltrated tissues capable of producing PSA. The elimination of PSA from the blood also meant that the chronic exposure of tumor-associated antigens to immunocytes was significantly reduced. We studied the rearrangements of

the immune system at one and three months in order to avoid an early stimulus of postoperative stress (stress hormone ejection, WBC, and cytokine fluctuations). The high immunogenicity of PCa [19] offers a unique platform to study tumor excision effects on sparing or even boosting postoperative immunosurveillance function. However, the specific markers indicating immune rearrangement in progressing PCa or following RP are yet to be elucidated [20]. We compared the pre- and postoperative status in patients with primary PCa, subdivided into two arbitrary groups: LR (including low- and intermediate-risk patients) and HR (including high- and very high-risk patients). RP induced a CD8+ percent and absolute count increase in LR patients, which was not the case in the HR group. Tumor resection is known to release antitumor CD8+ T cells from chronic antigen exposure, allowing a gradual differentiation toward functional antitumor memory T cells [21]. The absence of T cell CD8+ recovery in our HR group might indicate the continuation of postoperative chronic antigen exposure. The indirect evidence for this is demonstrated by substantially slower PSA decline rates in HR patients, reflected in their ePSA. The mean value of ePSA in HR patients turned positive in the interval between one and three months, which indicates a partial rebound of PSA in this group. Although PSA cannot be directly associated with tumor-associated antigens, its partial rebound might signify prolonged tumor antigen, or another tumor released product exposure. Surgical stress might be an additive factor disabling cytolytic CD8+ effectiveness during this chronic exposure phase. In fact, surgically stressed CD8+ T cells display reduced cytokine secretion, proliferation, and tumor infiltration in response to tumor antigens [22].

We did not observe any significant change in CD4+ numbers following RP in either risk group. This stable CD4+ level resulted in surgery-induced CD4/CD8 ratio decline in the LR group, due to CD8+ subset increase. Some investigators tend to attribute this effect to early postoperative stress. Thus, modest stress was found to decrease the ratio of CD4/CD8 in the spleen of mice [23]. Other studies reported that a postoperative correction of the CD4/CD8 ratio and improvement of prognosis might be achieved by adding adoptive immunotherapy [24]. The number of intratumoral rather than circulating CD8+ cells is considered indicative of immunosurveillance by some authors. Thus, the higher CD8+ counts in PCa tissue were associated with a lower risk of BCR and metastatic disease [25]. However, the opposite effect with an increased CD8+ intratumoral density was also reported [26].

Memory CD8+ T cells are classified as those that are present in circulation and those that are tissue-resident or tumor-resident memory CD8+ T cells. Surgical intervention disrupts this communication. Therefore,

it is hard to interpret the recovery of circulating CD8⁺ T cells, which was observed by us only in the LR group, not in the HR group. We hypothesized that chronic exposure to tumor or residual PCa products remaining postoperatively were inhibiting the circulatory CD8⁺ subset in the HR group. The number of T cells co-expressing CD69⁺ and CD8⁺ increased in both risk groups postoperatively. The absolute numbers of CD8⁺, however, were not increased in HR patients. It was demonstrated that the rapid recruitment of memory CD8⁺ from the circulation into non-lymphoid tissues was accompanied by the co-expression of CD69⁺ and subsequent residence in the infiltrated sites [27]. This observation was made on non-malignant but virus-infected tissues. However, the mechanisms involved in the memory CD8⁺ T cells acquiring CD69⁺ upon de novo antigen stimulation should be similar.

We can hypothesize that higher CD8⁺ counts remaining in circulation postoperatively might be also preconditioned to elicit increased acquisition of CD69⁺. This might lead to a recruitment of CD8⁺ CD69⁺ T cells into residual or micrometastatic sites. The CD8⁺ CD69⁺ cell activation has been shown to be a key factor in tumor control, at least in experimental models [28]. Interestingly, the most appealing evidence indicating that the circulatory CD8⁺ CD69⁺ cells are a key factor in antigen-related tissue destruction was demonstrated by histological findings in a heart transplant rejection specimen [29].

PCa destruction induced by radiotherapy revealed an opposite immunophenotype rearrangement profile compared to ours [30]. In that study, the CD4/CD8 ratios in peripheral blood were consistently higher in patients with a complete response or partial response to RT than in those classified to have stable disease. A direct comparison between tumor excision and RT-mediated tumor destruction might not be relevant since RT can also result in severe treatment-related lymphopenia.

We also expected that CD4⁺ CD25⁺ Fox3P⁺ regulatory T cells, which include two categories of lymphocytes (natural and induced Tregs), will be responsive to PCa removal. In fact, prostate-infiltrating CD4⁺Fox3P⁺ cells were shown to elicit pro-tumorigenic activity even before malignant transformation was established [31]. The Tregs and MDSCs are currently viewed as one of the key targets to achieve therapeutic effects in PCa patients treated with immune checkpoint inhibitors (ICIs) [32]. However, we did not observe any PCa excision effects on the Treg CD4⁺ CD25⁺ Fox3P⁺ cells among study participants. Calculating ratios of CD4/CD4⁺ CD25⁺ Fox3P⁺ did not add any additional information.

We observed a postoperative MDSC increase in the HR group only. It indicates that the immune restoration effect of surgical treatment is harder to achieve in HR patients. An important finding was that the RP made by the minimally invasive technique LRP did not result in an increase of MDSCs among PC patients. The immunity-sparing LRP, as compared to ORP, is potentially advantageous in terms of not upregulating MDSCs capable of provoking dormant tumors. An increasing body of evidence demonstrates that immunosuppressive mechanisms mediated by MDSCs are a key contributor to tumor progression and that these mechanisms promote tumor escape from dormancy [16]. The potential LRP benefit of preventing surgery-induced MDSC upregulation did not result in better treatment outcomes in our study participants. The frequency of BCR was comparable in LRP vs. ORP groups, with a trend of LRP advantage ($p = 0.33$). However, mechanisms of MDSC-mediated immune evasion of dormant tumors might take many years to be triggered.

We observed an NK number increase in the LR group only. A similar NK response to PCa surgery was recently found by Lu et al. [33]; only functional NK restoration following RP was observed. In addition, the absence of positive margins facilitated surgery-induced NK restoration significantly in this study. Our risk group assessment was slightly different from the one explored in [33]. We did not investigate functional NK activity, but NK counts were increased in the LR group following tumor excision. The restorative effect of RP on NK activity might be expected. Advanced cancer stages are known to elicit NK activity suppression significantly more as compared to initial stages [34]. Therefore, different response patterns in LR and HR patients can be explained by the size and extension of the operated tumors.

Both the LRP and ORP restored NK counts significantly among our study participants. A significantly lower impairment of cell-mediated immunity after surgery was demonstrated in patients treated by the laparoscopic method compared with those treated by open laparotomy [9,10]. However, other studies failed to detect any difference in immunophenotype rearrangements when these two methods were compared [11]. All of these findings, however, were obtained from non-PCa patients. This is due to the fact that the LRP technique is not yet universally considered to be the golden standard for PCa surgical treatment. However, LRP for the excision of PCa is being increasingly adopted as the method of choice [35–37]. National US cohort data showed that LRP was independently associated with clinically meaningful reductions in positive surgical margins, postoperative radiation therapy, and 30-day mortality,

compared to the open method [38]. There is, however, a certain amount of skepticism [39] among some urologists about the advantages of this method. Nevertheless, accumulating evidence suggests that the LRP technique not only results in less pain and faster recovery, but also in a specific biomedical advantage during the postoperative course of PCa. For instance, there are data indicating that the LRP technique could be advantageous in terms of a lower release of circulating tumor cells [40] or fewer blood transfusions needed in PCa patients [41]. These two factors might be essential for immunological crosstalk between immunocytes and residual micrometastatic disease. The association between higher risk of recurrence and transfusion rates [42] or circulatory tumor cell number [43] is well documented. The auto- or alloantigen overstimulation in these two cases might also play a negative role.

Overall, different postoperative immunocyte profiles of LRP (CD8+, NK, MDSC) vs. ORP (CD8+, NK, MDSC) were observed. The ORP-induced MDSCs in some patients might lead to a chain of events in the postoperative period. The importance of MDSC increase in the postoperative period has been reported in lung cancer patients [43]. This study demonstrated that MDSCs increased after lung cancer surgery, and surgery-induced MDSCs correlated significantly with elevated numbers of Treg in circulation. Experimental surgery-induced lung tumors were related to MDSC increase in this study. We did not observe any significant increase in Treg, regardless of the risk group or surgical method applied. The postoperative increase in circulating MDSCs observed in our ORP group and in HR patients might also lead to some adverse effects, such as angiogenesis activation. For instance, the MDSCs isolated after surgery from lung cancer patients were more efficient in promoting angiogenesis and tumor growth than MDSCs isolated before surgical operation [44]. A potentially less invasive approach of not upregulating suppressor MDSC release in the postoperative period might be advantageous over ORP.

The LRP adoption for RP might have important implications, since a minimally invasive technique is known to elicit a distinct range of systemic effects. For instance, a reduction of surgical trauma by use of a laparoscopic approach was demonstrated to restore reduced IL-2, TNF, and INF production by T cells [45]. This effect was not seen where open surgery was applied. Experimental tumor progression was significantly reduced by the laparoscopic approach, but not by laparotomy [46]. In addition, immune enhancement in some models was seen by exploring a minimally invasive technique [47]. Finally, LRP does not cause significant increases in circulating PCa tumor cells, in contrast to ORP [40].

PCa exhibits a paradoxical interplay with the immune system. Although highly immunogenic, PCa is rarely responsive to immunomodulating therapies, and the PD-L1 expression in PCa cells is generally low [48].

It is well known that the systemic effects following surgical intervention might result in a series of events that could significantly provoke the progression of a malignant disease [7,49]. However, the opposite concept also exists: surgical tumor removal restores blocked antitumor immunity [50] and paves the way for perioperative immunotherapy. The surprising evidence in support of the latter concept comes from an analysis of debulking surgeries applied to oligometastatic PCa [51]. This controversial approach to conducting a surgical procedure on metastatic PCa seems to be justifiable in some cases [52]. The evidence in support of this concept is based on experiments with mice becoming immune to tumor rechallenge following the excision of a primary tumor [50].

In our study, HR and LR patients demonstrated distinct subset responses to RP. The patterns for the LR group can be described as restorative (T-cell, CD8+ CD69+, NK, MDSC), whereas the HR group can be characterized as insufficiently restorative (CD8+ CD69+, MDSC) and potentially unable to control minimal residual disease. The more effective postoperative CD19+ decline in LRP group was also potentially the reflection of a “curative” RP effect on the systemic recruitment of the monoclonal low count B cell lineage, in a fraction of our study participants.

It is somewhat difficult to explain why immunophenotype rearrangements were more likely to occur in patients operated by LRP as compared to ORP.

Our study is not without certain limitations. First, the study period was not long enough to track all BCR patients. Second, we explored arbitrary risk groups, combining low and intermediate risk in the LR category and high and very high into the HR category. This categorization enabled us to demonstrate two distinct patterns of immunocyte behavior in response to surgical intervention. Surgery-induced immunocyte recovery might not always mean therapeutic gains. For instance, tumor excision was shown to elicit dramatic down-regulation of the peripheral CD279 (PD-1) subset [53]. But at the same time, it meant that patients with surgery-reconstituted immunity became unresponsive to ICI. Therefore, the authors suggest that the opportunity for ICI therapy only exists in the timeframe of the early perioperative period, while the CD279 cell is still present. Our study addresses the issue that surgery-induced immunosurveillance recovery is quite complex, and multiple markers beyond CD279 might be playing a role. Clinical trials applying perioperative immunotherapies for PCa should

consider specific profiles of immunocyte subsets emerging after tumor excision.

Our data exhibits direct clinical implications in cases where patients might need post-operative RT. The appropriate timing of RT for HR patients after RP remains controversial. The efficacy of adjuvant RT vs. salvage RT seems to be advantageous [54], although some clinicians might show resistance to acknowledge the necessity of timely RT [55]. Our data show that not only HR patients but also some participants in the LR group might be at higher odds of developing BCR, as judged by ePSA and some immunophenotype alterations. Unlike immunological analysis, the ePSA is easy to implement in clinical practice. It requires only two PSA tests at the early postoperative period, with an exact timing expressed in days. At least in theory, more patients might benefit significantly from timely adjuvant RT, since ePSA is an indicative parameter in all risk groups.

We conclude that tumor excision in prostate cancer patients results in two distinct patterns of immunophenotype rearrangement. The low-risk group was highly responsive, revealing postoperative restoration of T cells, NK cells, and CD8+ CD69+ and the absence of suppressor MDSC increase. The high-risk group presented a surgery-limited response status accompanied by a suppressor MDSC increase and CD8+CD69+ increase. The laparoscopic approach, unlike ORP, did not result in an MDSC increase in the postoperative period.

5. CONCLUSIONS

1. The LRP appeared to be advantageous over ORP in sparing postoperative immunosurveillance. The application of the LRP method resulted in an increased number of cytotoxic lymphocytes, reduced cancer-stimulated B lymphocyte counts, and an absence of up-regulation of myeloid-derived suppressor cells.

2. Upon excision of PCa, two patterns of immunocyte rearrangements were observed:

- a) A complete restoration of T cell, NK, CTL, whereas MDSC did not reveal an upregulation trend following RP. This pattern was attributable to the LRP method as well as to the low-risk patients group.

b) An absence of CTL increase as well as MDSC increase in the postoperative period. This pattern of response was observed in patients undergoing open surgery and patients in the high-risk group.

3. An integrated two-parameter (ePSA plus immunophenotype) benchmark was assessed in order to unveil the best applicable BCR prognosticator suitable for a 32-month postoperative follow-up. The combined ePSA plus preoperative CD4+Fox3P+ value appeared to be the best predictor of BCR in ORP operated participants, whereas the preoperative CD4+/CD8+CD69+ ratio combined with ePSA exhibited a prognostic priority once the LRP procedure was applied. The timing of adjuvant radiation therapy might be effectively adjusted based on these findings in the high-risk patient group.

6. RECOMMENDATIONS

It would be appropriate to assess the predictive significance of ePSA on the recurrence risk of prostate cancer in a large-volume prospective study.

The LRP might be recommended not only due to less postoperative pain, faster recovery rates, its cosmetic effect, or shorter hospitalization time, but also as an immunity-sparing method of choice.

7. PUBLICATIONS

1. Paulius Bosas, Gintaras Zaleskis, Daiva Dabkevičiene, Neringa Dobrovolskiene, Agata Mlynska, Renatas Tikuišis, Albertas Ulys, Vita Pašukoniene, Sonata Jarmalaitė, Feliksas Jankevičius. Immunophenotype Rearrangement in Response to Tumor Excision May Be Related to the Risk of Biochemical Recurrence in Prostate Cancer Patients. *Journal of Clinical Medicine*. PMID: 34442004 PMID: PMC8396861 DOI: 10.3390/jcm10163709

2. Gintaras Zaleskis, Paulius Bosas, Albertas Ulys, Daiva Dabkevičiene, Neringa Dobrovolskiene, Bret Andrew Hudson, and Vita Pašukoniene. A Refinement of Clinical Tumor Marker Monitoring: Why Not Use an Inverse Value of Doubling Time? *Medical Principles and Practice*. 2021 Jun; 30(3): 292–296. doi: 10.1159/000515977.

3. Paulius Bosas, Gintaras Zaleskis, Vita Pasukoniene and Feliksas Jankevicius. Letter to the Editor: No immunophenotyping in peripheral blood of prostate cancer patients treated with neoadjuvant Rituximab? *J Transl Med* (2020) 18:333DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02496-5>

4. Paulius Bosas Gintaras Zaleskis Bret Andrew Hudson Feliksas Jankevicius Vita Pasukoniene. Comparison of B lymphocyte effects of laparoscopic versus open prostatectomy in prostate cancer patients. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 2021, Volume 8, Issue 3, Pages 437–441

8. PRESENTATIONS ON THE SUBJECT OF THE DOCTORAL DISSERTATION

1. Paulius Bosas. “Immunological differences between open and laparoscopic radical prostatectomies.” The European Board of Urology Conference 2019/05/13-16, Vilnius.

2. Paulius Bosas. “Immunological differences between open and laparoscopic radical prostatectomies.” The European Board of Urology Conference 2021/02/22-25, Vilnius

9. PRESENTATIONS INDIRECTLY RELATED TO THE SUBJECT OF THE DOCTORAL DISSERTATION

1. Paulius Bosas. “Laparoscopic radical prostatectomy with nerve fiber preservation. Practical demonstration from operating room.” The European Board of Urology. 2020/02/24-27, Vilnius.

2. Paulius Bosas. “Laparoscopic radical prostatectomy with lymph node removal. Robotic hand (DEX). Practical demonstration from operating room.” The European Board of Urology. 2020/02/24-27, Vilnius.

3. Paulius Bosas. “Laparoscopic radical prostatectomy with nerve fiber preservation. Robotic hand (DEX). Practical demonstration from operating room.” The European Board of Urology. 2019/05/13-15, Vilnius.

4. Paulius Bosas. “Hands-on Training in laparoscopy. Practical demonstration.” The European Board of Urology. 2018/05/25-26, Riga.
5. Paulius Bosas. “Laparoscopic radical prostatectomy. Practical demonstration from operating room.” The European Board of Urology. 2018/02/02, Vilnius.

REFERENCES

1. Rawla P. Epidemiology of prostate cancer. *World J Oncol* **2019**; 1: 63–89. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Sauer S, Reed DR, Ihnat M, Hurst RE, Warshawsky D, Barkan D. Innovative ap-proaches in the battle against cancer recurrence: Novel strategies to combat dormant dis-seminated tumor cells. *Front Oncol* **2021**; 11: 659963. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Ginzburg S, Nevers T, Staff I, Tortora J, Champagne A, Kesler SS, Laudone VP, Wagner JR. Prostate cancer biochemical recurrence rates after robotic-assisted laparo-scopic radical prostatectomy. *JSLs* **2012**; 16: 443–450. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Grossfeld GD, Latini DM, Lubeck DP, Mehta SS, Carroll PR. Predicting recurrence after radical prostatectomy for patients with high-risk prostate cancer. *J Urol* **2003**; 169: 157–163. [[CrossRef](#)]
5. Kurbegovic S, Berg KD, Thomsen FB, Gruschy L, Iversen P, Brasso K, Røder MA. The risk of biochemical recurrence for intermediate-risk prostate cancer after radical pros-tatectomy. *Scand J Urol* **2017**; 51: 450–456. [[CrossRef](#)]
6. Ingram I. Surgery Rates Doubled for High-Risk Prostate Cancer. Use of Prostatectomy Nearly Equaled Radiotherapy in 2016. *MedPage Today* 2020. Available at: <https://www.medpagetoday.com/hematologyoncology/prostatecancer/88368>. Accessed on 1 August 2021.
7. Tohme S, Simmons RL, Tsung A. Surgery for cancer: A trigger for metastases. *Cancer Res.* **2017**; 77: 1548–1552. [[CrossRef](#)]
8. Janssen LM, Ramsay EE, Logsdon CD, Overwijk WW. The immune system in cancer metastasis: Friend or foe? *J Immunother Cancer* **2017**; 79: 1–14. [[CrossRef](#)]
9. Morgan TM, Lange PH, Porter MP, Lin DW, Ellis WJ, Gallaher IS, Vessella RL. Disseminated tumor cells in prostate cancer patients after

- radical prostatectomy and without evidence of disease predicts biochemical recurrence. *Clin Cancer Res* **2009**; 15: 677–683. [[CrossRef](#)]
10. Whelan RL, Franklin M, Holubar SD, Donahue J, Fowler R, Munger C, Doorman J, Balli JE, Glass J, Gonzalez JJ et al. Postoperative cell mediated immune response is better preserved after laparoscopic vs open colorectal resection in humans. *Surg Endosc* **2003**; 17: 972–978. [[CrossRef](#)]
 11. Tang CL, Eu KW, Tai BC, Soh JG, MacHin D, Seow-Choen F. Randomized clinical trial of the effect of open versus laparoscopically assisted colectomy on systemic immunity in patients with colorectal cancer. *Br J Surg* **2001**; 88: 801–807. [[CrossRef](#)]
 12. Raytis JL, Lew MW. Surgical Stress Response and Cancer Metastasis: The Potential Benefit of Perioperative Beta Blockade. In *Madame Curie Bioscience Database* [Internet]; Landes Bioscience: Austin, TX, USA, 2000–2013. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169223/>. Accessed on 1 August 2021.
 13. Coughlin GD, Yaxley JW, Chambers SK, Occhipinti S, Samaratunga H, Zajdlewicz L, Teloken P, Dunlison N, Williams S, Lavin MF et al. Robot-assisted laparoscopic prostatectomy versus open radical retropubic prostatectomy: 24-month outcomes from a randomised controlled study. *Lancet Oncol* **2018**; 19: 1051–1060. [[CrossRef](#)]
 14. Chi N, Tan Z, Ma K, Bao L, Yun Z. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with cancer stages, interleukin-8 and -6 in prostate cancer. *Int J Clin Exp Med* **2014**; 7: 3181–3192.
 15. Brusa D, Simone M, Gontero P, Spadi R, Racca P, Micari J, Degiuli M, Carletto S, Tizzani A, Matera L. Circulating immunosuppressive cells of prostate cancer patients before and after radical prostatectomy: Profile comparison. *Int J Urol* **2013**; 20: 971–978. [[CrossRef](#)]
 16. Cole K, Pravoverov K, Talmadge JE. Role of myeloid-derived suppressor cells in metastasis. *Cancer Metastasis Rev* **2021**; 40: 391–411. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 17. Shackleton EG, Ali HY, Khan M, Pockley GA, McArdle SE. Novel combinatorial approaches to tackle the immunosuppressive microenvironment of prostate cancer. *Cancers* **2021**; 13: 1145.
 18. Zaleskis G, Bosas P, Ulys A, Dabkevičienė D, Dobrovolskiene N, Hudson BA, Pašukoniene V. A refinement of clinical tumour marker monitoring – Why not use an inverse value of doubling time? *Med Princ Pract* **2021**; 30: 292–296. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

19. Bou-Dargham MJ, Sha L, Sang QXA, Zhang J. Immune landscape of human prostate cancer: Immune evasion mechanisms and biomarkers for personalized immunotherapy. *BMC Cancer* **2020**; 20: 572. [[CrossRef](#)]
20. Gaudreau PO, Stagg J, Soulières D, Saad F. The present and future of biomarkers in prostate cancer: Proteomics, genomics, and immunology advancements. *Biomark. Cancer* **2016**; 8: 15–33. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Brown MD, van der Most R, Vivian JB, Lake RA, Larma I, Robinson BW, Currie AJ. Loss of antigen cross-presentation after complete tumor resection is associated with the generation of protective tumor-specific CD8(+) T-cell immunity. *Oncoimmunology* **2012**; 1: 1084–1094. [[CrossRef](#)]
22. Ananth AA, Tai LH, Lansdell C, Alkayyal AA, Baxter KE, Angka L, Zhang J, Tanese de Souza C, Stephenson KB, Parato K et al. Surgical stress abrogates pre-existing protective T cell mediated anti-tumor immunity leading to postoperative cancer recurrence. *PLoS ONE* **2016**; 11: e0155947.
23. Jiang W, Li Y, Sun J, Li L, Li J, Zhang C, Huang C, Yang J, Kong G, Li Z. Spleen contributes to restraint stress induced changes in blood leukocytes distribution. *Sci Rep* **2017**; 7: 6501. [[CrossRef](#)]
24. Shindo G, Endo T, Onda M, Goto S, Miyamoto Y, Kaneko T. Is the CD4/CD8 ratio an effective indicator for clinical estimation of adoptive immunotherapy for cancer treatment? *J. Cancer Ther* **2013**; 4: 1382–1390. [[CrossRef](#)]
25. Vicier C, Ravi P, Kwak L, Werner L, Huang Y, Evan C, Loda M, Hamid AA, Sweeney CJ. Association between CD8 and PD-L1 expression and outcomes after radical prostatectomy for localized prostate cancer. *Prostate* **2021**; 81: 50–57. [[CrossRef](#)]
26. Petitprez F, Fossati N, Vano Y, Freschi M, Becht E, Lucianò R, Calderaro J, Guédet T, Lacroix L, Rancoita PMV et al. PD-L1 expression and CD8+ T-cell infiltrate are associated with clinical progression in patients with node-positive prostate cancer. *Eur Urol Focus* **2019**; 5: 192–196. [[CrossRef](#)]
27. Osborn JF, Hobbs SJ, Mooster JL, Khan TN, Kilgore AM, Harbour JC, Nolz JC. Central memory CD8+ T cells become CD69+ tissue-residents during viral skin infection independent of CD62L-mediated lymph node surveillance. *PLoS Pathog* **2019**; 15: e1007633. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Lan B, Zhang J, Lu D, Li W. Generation of cancer-specific CD8+ CD69+ cells inhibits colon cancer growth. *Immunobiology* **2016**; 221: 1–5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

29. Schowengerdt KO, Fricker FJ, Bahjat KS, Kuntz ST. Increased expression of the lymphocyte early activation marker CD69 in peripheral blood correlates with histologic evidence of cardiac allograft rejection. *Transplantation* **2000**; 69: 2102–2107. [[CrossRef](#)]
30. Yang ZR, Zhao N, Meng J, Shi ZL, Li BX, Wu XW, Li P, Zhang Q, Wei XB, Fu S. Peripheral lymphocyte subset variation predicts prostate cancer carbon ion radiotherapy outcomes. *Oncotarget* **2016**; 7: 26422–26435. [[CrossRef](#)]
31. Davidsson S, Andren O, Ohlson AL, Carlsson J, Andersson SO, Giunchi F, Rider JR, Fiorentino M. FOXP3+ regulatory T cells in normal prostate tissue, postatrophic hyperplasia, prostatic intraepithelial neoplasia, and tumor histological lesions in men with and without prostate cancer. *Prostate* **2018**; 78: 40–47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Kgatle MM, Boshomane TMG, Lawal IO, Mokoala KMG, Mokgoro NP, Lourens N, Kairemo K, Zeevaart JR, Vorster M, Sathekge MM. Immune checkpoints, inhibitors and radionuclides in prostate cancer: Promising combinatorial therapy approach. *Int J Mol Sci* **2021**; 22: 4109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Lu YC, Kuo MC, Hong JH, Jaw FS, Huang CY, Cheng JC, Kung HN. Lower postoperative natural killer cell activity is associated with positive surgical margins after radical prostatectomy. *J Formos Med Assoc* **2020**; 119: 1673–1683. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Hansen TF, Nederby L, Zedan AH, Mejlholm I, Henriksen JR, Steffensen KD, Thomsen CB, Raunkilde L, Jensen LH, Jakobsen A. Correlation between natural killer cell activity and treatment effect in patients with disseminated cancer. *Transl Oncol* **2019**; 12: 968–972. [[CrossRef](#)]
35. Koch MO. Robotic versus open prostatectomy: End of the controversy. *J Urol* **2016**; 19: 9–10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Qin Y, Han H, Xue Y, Wu C, Wei X, Liu Y, Cao Y, Ruan Y, He J. Comparison and trend of perioperative outcomes between robot-assisted radical prostatectomy and open radical prostatectomy: Nationwide inpatient sample 2009–2014. *Int Braz J Urol* **2020**; 46: 754–771. [[CrossRef](#)]
37. Du Y, Long Q, Guan B, Mu L, Tian J, Jiang Y, Bai X, Wu D. Robot-assisted radical prostatectomy is more beneficial for prostate cancer patients: A system review and meta-analysis. *Med Sci Monit* **2018**; 24: 272–287. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Pearce SM, Pariser JJ, Karrison T, Patel SG, Eggener SE. Comparison of perioperative and early oncologic outcomes between open and

- robotic assisted laparoscopic prostatectomy in a contemporary population based cohort. *J Urol* **2016**; 196: 76–81. [[CrossRef](#)]
39. Schmid M, Gandaglia G, Trinh QD. The controversy that will not go away. *Eur Urol* **2015**; 67: 439–440. [[CrossRef](#)]
40. Kauffman EC, Lee MJ, Alarcon SV, Lee S, Hoang AN, Walton Diaz A, Chelluri R, Vourganti S, Trepel JB, Pinto PA. Lack of impact of robotic assisted laparoscopic radical prostatectomy on intraoperative levels of prostate cancer circulating tumor cells. *J Urol* **2016**; 195: 1136–1142. [[CrossRef](#)]
41. Gupta N, Visagie M, Kajstura TJ, Han M, Trock B, Gehrie EA, Frank SM, Bivalacqua TJ. Reducing preoperative blood orders and costs for radical prostatectomy. *J Comp Eff Res* **2020**; 9: 219–226. [[CrossRef](#)]
42. Li SL, Ye Y, Yuan XH. Association between allogeneic or autologous blood transfusion and survival in patients after radical prostatectomy: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* **2017**; 12: e0171081. [[CrossRef](#)]
43. Galletti G, Portella L, Tagawa ST, Kirby BJ, Giannakakou P, Nanus DM. Circulating tumor cells in prostate cancer diagnosis and monitoring: An appraisal of clinical potential. *Mol Diagn Ther* **2014**; 18: 389–402. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Wang J, Su X, Yang L, Qiao F, Fang Y, Yu L, Yang Q, Wang Y, Yin Y, Chen R et al. The influence of myeloid-derived suppressor cells on angiogenesis and tumor growth after cancer surgery. *Int J Cancer* **2016**; 138: 2688–2699. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Brune IB, Wilke W, Hensler T, Holzmann B, Siewert JR. Downregulation of T helper type 1 immune response and altered pro-inflammatory and anti-inflammatory T cell cytokine balance following conventional but not laparoscopic surgery. *Am J Surg* **1999**; 17: 755–760.
46. Allendorf JD, Bessler M, Kayton ML, Oesterling SD, Treat MR, Nowygrod R, Whelan RL. Increased tumor establishment and growth after laparotomy vs laparoscopy in a murine model. *Arch Surg* **1995**; 130: 649–653. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Wildbrett P, Oh A, Carter JJ, Schuster H, Bessle M, Jaboci CA, Whelan RL. Increased rates of pulmonary metastases following sham laparotomy compared to CO₂ pneumoperitoneum and the inhibition of metastases utilizing perioperative immunomodulation and a tumor vaccine. *Surg Endosc* **2002**; 16: 1162–1169. [[CrossRef](#)]

48. Abdul Sater H, Marté JL, Donahue RN, Walter-Rodriguez B, Heery CR, Steinberg SM, Cordes LM, Chun G, Karzai F, Bilusic M et al. Neoadjuvant PROSTVAC prior to radical prostatectomy enhances T-cell infiltration into the tumor immune microenvironment in men with prostate cancer. *J Immunother Cancer* **2020**; 8: e000655. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Ben-Eliyahu S. Tumor excision as a metastatic Russian roulette: Perioperative interventions to improve long-term survival of cancer patients. *Trends Cancer* **2020**; 6: 951–959. [[CrossRef](#)]
50. Aliche B, Totpal K, Schartner JM, Berkley AM, Lehar SM, Capietto AH, Cubas RA, Gould SE. Immunization associated with primary tumor growth leads to rejection of commonly used syngeneic tumors upon tumor rechallenge. *J Immunother Cancer* **2020**; 8: e000532. [[CrossRef](#)]
51. Xue P, Wu Z, Wang K, Gao G, Zhuang M, Yan M. Oncological outcome of combining cytoreductive prostatectomy and metastasis-directed radiotherapy in patients with prostate cancer and bone oligometastases: A retrospective cohort study. *Cancer Manag Res* **2020**; 12: 8867–8873. [[CrossRef](#)]
52. Battaglia A, de Meerleer G, Tosco L, Moris L, van den Broeck T, Devos G, Everaerts W, Joniau S. Novel insights into the management of oligometastatic prostate cancer: A comprehensive review. *Eur Urol Oncol* **2019**; 2: 174–188. [[CrossRef](#)]
53. MacFarlane AW, Jillab M, Plimack ER, Hudes GR, Uzzo RG, Litwin S, Dulaimi E, Al-Saleem T, Campbell KS. PD-1 expression on peripheral blood cells increases with stage in renal cell carcinoma patients and is rapidly reduced after surgical tumor resection. *Cancer Immunol Res* **2014**; 2: 320–331. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Borghetti P, Spiazzi L, Cozzaglio C, Pedretti S, Caraffini B, Triggiani L, Greco D, Bardoscia L, Barbera F, Buglione M et al. Postoperative radiotherapy for prostate cancer: The sooner the better and potential to reduce toxicity even further. *Radiol Med* **2018**; 123: 63–70. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Alongi F, De Bari B, Franco P, Ciammella P, Chekrine T, Livi L, Jereczek-Fossa BA, Filippi AR, AIRO Young and AIRO Prostatecancer Working Group. The PROCAINA (PROstateCAnceRINdicationAttitudes) Project (PartI): A survey among Italian radiation oncologists on postoperative radiotherapy in prostate cancer. *Radiol Med* **2013**; 118: 660–678. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

CURRICULUM VITAE

EDUCATION:	
August 2001–July 2003	Kaunas Medical University Doctor Urologist (Urology Residency) In order to get a Doctor Urologist degree in Lithuania it is necessary to study at General Surgery Residency (4 years) and Urology Residency (2 years only at the Urology department)
August 1997–July 2001	Kaunas Medical University Doctor General Surgeon (General Surgery Residency)
August 1996–July 1997	Kaunas Medical University Medical Practitioner (General Medicine Residency)
September 1990–July 1996	Kaunas Medical University Medical Doctor (Studies in the Faculty of Medicine)
PROFESSIONAL QUALIFICATIONS:	
	<p>General Medicine Residency. August 1996–July 1997</p> <p>General Surgery Residency. August 1997–July 2001</p> <p>Urology Residency. August 2001–July 2003</p> <p>Licence to earn by primary medicine practice. August 1999.</p> <p>Licence to earn by practice of a physician surgeon. July 2001.</p> <p>Licence to earn by practice of a physician urologist. July 2003.</p> <p>Licence giving right to work as an ultrasonographer. December 1999.</p>

PROFESSIONAL MEMBERSHIPS:	
	Lithuanian Urologists Assembly
WORK EXPERIENCE:	
	<p>1. 2016–Present National Cancer Institute 1 Santariškių St., LT-08406 Vilnius, Lithuania Position: Consultant Urologist</p> <p>2. 2019–Present Urolita Clinic 6-124 Savanorių Ave., Vilnius, Lithuania Position: Consultant Urologist</p> <p>3. 2010–Present Vilnius Heart Surgery Center, UAB Kardiolita 64A Laisvės Ave., 05263 Vilnius, Lithuania Position: Consultant Urologist</p> <p>4. 2003–2016 Kaunas Clinical Hospital 2 Josvainių St., 47144 Kaunas, Lithuania Position: Consultant Urologist</p> <p>5. 2006–2016 Jonava Hospital 19 Žeimių St., 55134 Jonava, Lithuania Position: Consultant Urologist</p> <p>6. 2010–2011 Vilnius University Emergency Hospital 29 Šiltnamių St., LT-04130, Vilnius, Lithuania (http://www.vgpul.lt/en/) Position: Consultant Urologist</p> <p>7. 1999–2016 Kaunas Šilainių Clinic 7 Baltų Ave., 48259 Kaunas, Lithuania</p>

	Position: Consultant Urologist 8. 1999–2007 “Mother & Child” Clinic 245 Savanorių Ave., 50154 Kaunas, Lithuania Position: Consultant Urologist
--	---

WORK DESCRIPTION:

Diagnosis and treatment of a wide range of urological disorders (including oncological disorders). Urological surgery: laparoscopic operations (extraperitoneal radical prostatectomy (nerve-sparing including high-interfascial); extended lymphonodectomy with extraperitoneal radical prostatectomy, retrograde extraperitoneal radical prostatectomy; extraperitoneal and transperitoneal Burch colposuspension; transperitoneal and retroperitoneal nephrectomy, transperitoneal and retroperitoneal partial nephrectomy and resection; transperitoneal and retroperitoneal pyeloplasty; ureterolithotomy, adenomectomy; varicocelectomy, nephruerectomy with bladder resection, nephropexy. Endoscopic operations: ureteroscopy and lithotripsy (using a rigid and flexible ureteroscope); PCNL (ultrasound guided); percutaneous pyelotomy; TUR of the prostate and bladder; Open operations: retropubic and transvesical prostatectomy; nerve-sparing radical prostatectomy (antegrade and retrograde); nephrectomy and nephruerectomy; pyelolithotomy; ureterolithotomy; pyeloureteroplasty; colposuspension mode Burch, TOT for men with urine incontinence, all ultrasound guided interventions (percutaneous nephrostomy, biopsy, abscess drainage), etc.

In outpatient consulting rooms: ultrasound examination.

TESA and less complicated urologic surgeries (e.g., spermatic sclerotherapy, penis straightening – corporoplasty mode Nesbit, Schroder).

PRESENTATIONS & PUBLICATIONS:

2021: Paulius Bosas, Gintaras Zaleskis, Daiva Dabkevičienė, Neringa Dobrovolskienė, Agata Mlynska, Renatas Tikuišis, Albertas Ulys, Vita Pašukonienė, Sonata Jarmalaitė, Feliksas Jankevičius. Immunophenotype

Rearrangement in Response to Tumor Excision May Be Related to the Risk of Biochemical Recurrence in Prostate Cancer Patients. *Journal of Clinical Medicine*. 2021 August; PMID: 34442004 PMCID: PMC8396861 DOI: 10.3390/jcm10163709.

2021: Gintaras Zaleskis, Paulius Bosas, Albertas Ulys, Daiva Dabkevičiene, Neringa Dobrovolskiene, Bret Andrew Hudson, and Vita Pašukoniene. A Refinement of Clinical Tumor Marker Monitoring: Why Not Use an Inverse Value of Doubling Time? *Medical Principles and Practice*. 2021 Jun; 30(3): 292–296. DOI: 10.1159/000515977.

2021: Paulius Bosas, Gintaras Zaleskis, Bret Andrew Hudson, Feliksas Jankevicius, Vita Pasukoniene. Comparison of B lymphocyte effects of laparoscopic versus open prostatectomy in prostate cancer patients. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 2021, Volume 8, Issue 3, Pages 437–441.

2020: Paulius Bosas, Gintaras Zaleskis, Vita Pasukoniene and Feliksas Jankevicius. Letter to the Editor: No immunophenotyping in peripheral blood of prostate cancer patients treated with neoadjuvant Rituximab? *J Transl Med* (2020). 18:333. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02496-5>.

2019: Presentation. Paulius Bosas. “Immunological differences between open and laparoscopic radical prostatectomies.” The European Board of Urology Conference, 2019/05/13–16, Vilnius.

2021: Presentation. Paulius Bosas. “Immunological differences between open and laparoscopic radical prostatectomies.” The European Board of Urology Conference, 2021/02/22–25, Vilnius.

2020: Paulius Bosas. “Laparoscopic radical prostatectomy with nerve fiber preservation.” Practical demonstration from the operating room. The European Board of Urology, 2020/02/24–27, Vilnius.

2020: Paulius Bosas. “Laparoscopic radical prostatectomy with lymph node removal. Robotic hand (DEX).” Practical demonstration from the operating room. The European Board of Urology, 2020/02/24–27, Vilnius.

2019: Paulius Bosas. “Laparoscopic radical prostatectomy with nerve

fiber preservation. Robotic hand (DEX).” Practical demonstration from the operating room. The European Board of Urology, 2019/05/13–15, Vilnius.

2018: Paulius Bosas. “Hands-on Training in laparoscopy.” Practical demonstration. The European Board of Urology, 2018/05/25–26, Riga.

2018: Paulius Bosas. “Laparoscopic radical prostatectomy.” Practical demonstration from the operating room. The European Board of Urology, 2018/02/02, Vilnius.

2011: presented the article “Ultrasound guided PCNL,” Lithuanian Urology Association Congress.

2010: presented the article “High Interfastial Nerve-sparing during Extraperitoneal laparoscopic radical prostatectomy,” Lithuanian Urology Association Congress.

2010: presented the article “Laparoscopic ureterovesicostomy,” Video Urology World Congress at Marsa Alam, Egypt.

2009: presented the article “Laparoscopic heminephrurerectomy,” Lithuanian Urology Association Congress.

2009: presented the article “Laparoscopic ureterovesicostomy,” Lithuanian Urology Association Congress.

2009: presented the article “Laparoscopic kidney resection with adrenalectomy,” Lithuanian Urology Association Congress.

2009: presented the article “Laparoscopic Burch colposuspension,” Lithuanian Urology Association Congress.

2008: presented the article “Laparoscopic pyeloureteral junction plastic with a calyceal calculus extraction,” Lithuanian Urology Association Congress.

2008: presented the article “Extraperitoneal laparoscopic radical prostatectomy,” Lithuanian Urology Association Congress.

2003: presented the scientific paper “Endoscopic Diagnosis and Treatment of Ureterocele” in Malmo, Sweden.

2003: presented the article “Urological Trauma” in Kaunas, Lithuanian Urology Association Congress.

2002: presented a lecture/report at a conference of the Lithuanian Urologists Assembly. The latest in Urology: Alpha-Blockers.

2001: presented my abstract “Ultrasonographic characteristics of prostate and testicles in the unselected group of men,” in Riga, Latvia.

2001: presented my abstracts at the Kaunas Medical University Hospital: “Dependence of calculous disease on nephroptosis of right kidney,” “Specifics of the sexual life of women living in Lithuania,” and “Effects of urinary incontinence on the sexual life of women.”

2000: presented my abstract “Penis straightening operation – corporoplastica penis,” Kaunas Medical University Hospital.

1997: presented my abstract “Influence of Adenomectomy Methods on Sexual Potency,” Mikolajki, Poland.

Radavičius A., Bosas L., Bosas P. Endoscopical Diagnosis and Treatment of Ureterocele. *Medicina* (Kaunas). 1999, Vol. 35. Suppl 2–154.

Matjosaitis A, Rinkunas G, Bosas P. Percutaneous nephrostomy at the Kaunas Clinical Hospital. *Medicina* (Kaunas). 2002; 38 Suppl 1:76–8.

Mickevicius R, Bosas P. Incidence of varicocele measured by echoscopy. *Medicina* (Kaunas). 2002; 38 Suppl 1:66–8.

Bosas P, Bosas L, Matjosaitis A. Penis deviation correction using Schroder's method and patients' postoperative quality of life. *Medicina* (Kaunas). 2002; 38 Suppl 1:63–65 Available at:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed&cmd=Search&term=%22Bosas+P%22%5BAuthor%5D>>.

COURSES ATTENDED:

Course title	Training provider	Duration	Year obtained
Studying in Boblingen Hospital in Germany	Prof. Erich Muhe	1 month	1997
EUREP 2nd Course in Preparation for EBU Examination		1 week	2003
Workshop “Laparoscopy in Urology”	Bydgosc, Poland (lectured by Professor Claude Abbou)	4 days	2005
26th World Congress of Endourology & SWL, Shanghai, China	Endourological Society	5 days	2008
Annual Scientific Meeting	Urological Society of Australia and New Zealand	5 days	2009
World Meeting on Lower Urinary Tract Dysfunction	SIU	4 days	2010
14th World Meeting of the ISSM, Seoul, Korea	European Accreditation Council for Continuing Medical Education	5 days	2010
BLS courses	Crisis Research Center, funded by EU	12 hours	2011

More than 70 other courses as well as SIU and EAU congresses could be provided on request.

PADĖKA

Noriu padėkoti, kad rašydamas šį mokslinį darbą visą laiką jaučiau savo vadovo prof. dr. (HP) Felikso Jankevičiaus tvirtą paramą, girdėjau svarius jo žodžius ir mokslinius argumentus. Nepaisydamas daugybės darbų, profesorius skyrė laiko ne tik straipsnių paieškai, bet ir jų apžvalgai, bendriems doktorantų ir vadovo susitikimams. Esant reikalui galėdavau drąsiai kreiptis į vadovą patarimo ne tik dėl mokslinio darbo praktinės dalies, bet ir įvairios dokumentacijos rengimo, derinimo ir kt. klausimais. Profesoriaus, kuris ne vienam kolegai yra urologijos autoritetas, užduotas aukštas tonas ir dėmesys savotiškai inspiravo mane prieinamą informaciją apdoroti visapusiškai, t. y. išsiaiškinti net menkiausius niuansus, kad šis mokslinis darbas būtų ne formalus, bet turėtų praktinę išliekamąją vertę.

Be galo vertinu svarų prof. dr. (HP) Sonatos Jarmalaitės indėlį. Ji dalijosi ekspertinėmis žiniomis ir kompetencija, taikliai ir apgalvotai pateikdama pastabas viso mokslinio darbo fragmentuose. Svarbiausia, tam skyrė daug savo laiko po darbo valandų, negailėdama net savaitgalių.

Už visokeriopą pagalbą rašant mokslinį darbą taip pat širdingai dėkoju dr. Vitai Pašukonienei, kuri savo specifiniais įgūdžiais ir gebėjimais kiekvieną kilusią mintį išgrynindavo taip, kad ši būtų tęstinė ir užtikrintų darbo nepertraukiamumą. Be to, būtent dr. Vita Pašukonienė rekomendavo imunologą dr. Gintarą Zaleskį, pasiūliusi jam bendradarbiauti ir pasidalyti ekspertine patirtimi ir žiniomis, apdorojant didžiulius informacijos srautus ir rengiant mokslinius straipsnius. Dr. Gintaro Zaleskio asmeninės savybės, tokios kaip darbštumas, mokėjimas produktyviai diskutuoti, naujovių ieškojimas ir puikios anglų kalbos žinios buvo naujų minčių ir mokslinių straipsnių idėjiniai generatoriai. Esu be galo dėkingas už visus savaitgalinius pokalbius ir susitikimus, aptariant mokslinio darbo statistinių skaičiavimų duomenis, pasidalytas įžvalgas ir konsultacijas straipsnių rengimo klausimais.

Noriu nuoširdžiai padėkoti visiems pacientams, kurie palaikė akademinę iniciatyvą ir sutiko dalyvauti mano atliekamame moksliniame tyrime.

PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

1. **Paulius Bosas**, Gintaras Zaleskis, Daiva Dabkevičienė, Neringa Dobrovolskienė, Agata Mlynska, Renatas Tikuišis, Albertas Ulys, Vita Pašukonienė, Sonata Jarmalaitė, Feliksas Jankevičius. Immunophenotype Rearrangement in Response to Tumor Excision May Be Related to the Risk of Biochemical Recurrence in Prostate Cancer Patients. *Journal of Clinical Medicine*. PMID: 34442004. PMCID: PMC8396861. doi: 10.3390/jcm10163709.

2. Gintaras Zaleskis, **Paulius Bosas**, Albertas Ulys, Daiva Dabkevičienė, Neringa Dobrovolskienė, Bret Andrew Hudson, Vita Pašukonienė. A Refinement of Clinical Tumor Marker Monitoring: Why Not Use an Inverse Value of Doubling Time? *Medical Principles and Practice* 2021 Jun; 30(3): 292–296. doi: 10.1159/000515977.

3. **Paulius Bosas**, Gintaras Zaleskis, Vita Pasukoniene, Feliksas Jankevicius. Letter to the Editor: No Immunophenotyping in Peripheral Blood of Prostate Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Rituximab? *J Transl Med* 2020; 18: 333. Available at: <<https://doi.org/10.1186/s12967-020-02496-5>>.

4. **Paulius Bosas**, Gintaras Zaleskis, Bret Andrew Hudson, Feliksas Jankevicius, Vita Pasukoniene. Comparison of B Lymphocyte Effects of Laparoscopic versus Open Prostatectomy in Prostate Cancer Patients. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine* 2021; 8(3): 437–441.

PATEIKTYS

1. Paulius Bosas. Immunological Differences Between Open and Laparoscopic Radical Prostatectomies. The European Board of Urology Conference 2019/05/13–16, Vilnius.

2. Paulius Bosas. Immunological Differences Between Open and Laparoscopic Radical Prostatectomies. The European Board of Urology Conference 2021/02/22–25, Vilnius.

Pateiktys, netiesiogiai susijusios su disertacijos uždaviniais

1. Paulius Bosas. Laparoscopic Radical Prostatectomy with Nerve Fiber Preservation. Practical Demonstration from Operating Room. The European Board of Urology. 2020/02/24–27, Vilnius.

2. Paulius Bosas. Laparoscopic Radical Prostatectomy with Lymph Node Removal. Robotic Hand (DEX). Practical Demonstration from Operating Room. The European Board of Urology. 2020/02/24–27, Vilnius.

3. Paulius Bosas. Laparoscopic Radical Prostatectomy with Nerve Fiber Preservation. Robotic Hand (DEX). Practical Demonstration from Operating Room. The European Board of Urology. 2019/05/13–15, Vilnius.

4. Paulius Bosas. Hands-on Training in Laparoscopy. Practical Demonstration. The European Board of Urology. 2018/05/25–26, Riga.

5. Paulius Bosas. Laparoscopic Radical Prostatectomy. Practical Demonstration from Operating Room. The European Board of Urology. 2018/02/02, Vilnius.

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius
El. p.: info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt
Tiražas 20 egz.