Arnis Vilks

**VISPĀRĒJĀS UN REĢIONĀLĀS
ANESTĒZIJAS SAISTĪBA AR
BETA-HERPESVĪRUSU AKTIVĀCIJU
UN IMUNOLOGISKAJĀM IZMAIŅĀM
ILGSTOŠĀS MIKROVASKULĀRĀS
BRĪVĀ LĒVERA OPERĀCIJĀS**

Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai
Specialitāte – anestezioloģija un reanimatoloģija

Rīga, 2017

RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Arnis Vilks

VISPĀRĒJĀS UN REĢIONĀLĀS
ANESTĒZIJAS SAISTĪBA AR
BETA-HERPESVĪRUSU AKTIVĀCIJU
UN IMUNOLOGISKAJĀM IZMAIŅĀM
ILGSTOŠĀS MIKROVASKULĀRĀS
BRĪVĀ LĒVERA OPERĀCIJĀS

Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – anestezioloģija un reanimatoloģija

Darba zinātniskās vadītājas:
Dr. med. asociētā profesore **Biruta Mamaja**,
Dr. med. asociētā profesore **Modra Murovska**

Rīga, 2017

ANOTĀCIJA

Cilvēka herpesvīruss-6 (HHV-6) un herpesvīruss-7 (HHV-7) ir plaši izplatīti limfotropi herpesvīrusi, ar kuriem inficēšanās notiek jau agrā bērnībā un kas saglabājas persistenti visā cilvēka dzīves laikā. Pēdējā laikā tiek pievērsta liela uzmanība beta-herpesvīrusu infekcijas lomai vairāku hronisku slimību attīstībā, taču vienota viedokļa joprojām nav. Tas varētu būt saistīts ar šo vīrusu plašo izplatību un dažādiem iedarbības mehānismiem uz organismu.

Darba mērķis bija pētīt dažādu – vispārējās un reģionālās – anestēzijas metožu pielietošanu ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās, to saistību ar HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivāciju un šūnu imunitātes izmaiņām, lai atrastu optimālu anestēzijas nodrošinājumu mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās.

Lai noteiktu vīrusu genomu secību klātbūtni, infekcijas latentu vai aktīvo fāzi un vīrusu slodzi, tika izmantota kvalitatīvā un kvantitatīvā polimerāzes ķēdes reakcija. Citokīnu ekspresijas līmeni plazmā noteica ar ELISA. Lietojot *Becton-Dickinson* plūsmas citofluorometru, tika analizētas imūnkompetento šūnu subpopulācijas.

Rezultāti parādīja, ka vispārējās anestēzijas pielietošana ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās ir saistīta ar statistiski ticamu HHV-7 infekcijas aktivāciju, savukārt ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās, izmantojot reģionālo anestēziju, nav konstatēta statistiski ticama saistība ar HHV-6 vai HHV-7 infekcijas aktivāciju.

Ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas, kas veiktas, izmantojot vispārējo anestēziju, nomāc šūnu imunitātes efektoro posmu, savukārt ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās, kas veiktas, izmantojot reģionālo anestēziju, tiek saglabāta aktīva imūnās atbildes reakcija.

Īsas rekonstruktīvās operācijas neatkarīgi no anestēzijas metodes – vispārējās vai reģionālās – nav saistītas ar HHV-6 vai HHV-7 infekcijas aktivāciju un izmaiņām imūnšūnu skaitā.

Pēc ilgstošām mikrovaskulārām brīvā lēvera operācijām ne aktīva, ne latentā/persistenta HHV-6 un HHV-7 infekcija neietekmē pēcoperācijas perioda norisi un ķirurģisko iznākumu.

Atsevišķos gadījumos nevar izslēgt aktīvas HHV-6 un HHV-7 infekcijas nozīmi pēcoperācijas perioda norisē un ķirurģiskajā iznākumā, par ko liecina mūsu aprakstītais neirofibromatozes klīniskais gadījums.

ANNOTATION

Beta-herpesvirus 6 (HHV-6) and beta-herpesvirus 7 (HHV-7) are ubiquitous immunomodulating viruses that after primary infection remain in the form of persistent infection throughout the life. There are a wide variety of studies trying to find and evaluate the role of infection of these herpesviruses in the development of various chronic diseases. Unfortunately, the final answer to this question is still not found. Probably it is linked to the broad distribution and different mechanisms of interference with the host organism of these viruses.

The aim of this study was to explore use of two different methods of anaesthesia – general and regional – for prolonged microvascular free flap surgery and their relationship with HHV-6 and HHV-7 activation and changes of cellular immunity in order to find the optimal anaesthetic technique for microvascular free flap surgeries.

Qualitative and quantitative polymerase chain reactions (PCR) were carried out to detect presence of viral genomic sequences, infection activity stage, and viral load. The expression level of cytokines was detected by enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA, subpopulations of immunocompetent cells – analysed by Becton Dickinson (USA) laser flow cytometer.

The results showed that prolonged microvascular free flap surgery, performed under general anaesthesia, causes a significant impact on the cellular immune response. Microvascular free flap surgeries performed under general anaesthesia were associated with significant activation of HHV-7 infection, while microvascular free flap surgeries performed under regional anaesthesia were not significantly associated with activation of HHV-6 or HHV-7 infection.

Microvascular free flap surgeries performed under general anaesthesia suppress the effector phase cellular immune response while microvascular free flap surgeries performed under regional anaesthesia preserve active immune response.

Short operations, irrespective of the anaesthetic technique used, are not related to activation of HHV-6 or HHV-7 and changes in the number of immune cells.

After prolonged microvascular free flap surgeries neither active, nor latent/persistent HHV-6 and HHV-7 infection does affect the post-operative period course and outcome of surgery.

In individual cases, as evidenced by our clinical case of neurofibromatosis, the impact of active HHV-6 and HHV-7 infection on the postoperative period course and surgical outcome could not be excluded.

SATURS

ANOTĀCIJA.....	2
ANNOTATION.....	3
SATURS.....	4
DARBĀ LIETOTIE APZĪMĒJUMI.....	6
IEVADS	7
Tēmas aktualitāte	7
Darba zinātniskā aktualitāte.....	9
Ētiskie aspekti.....	9
Darba novitāte.....	9
Darba mērķis.....	10
Pētnieciskā darba uzdevumi.....	10
Darba hipotēzes.....	10
1. LITERATŪRAS APSKATS	11
1.1. Anestēzijas nodrošinājums ilgstošām mikrovaskulārām brīvā lēvera operācijām	11
1.1.1. Asins plūsmas patofizioloģija transplantētajā brīvajā lēverī.....	12
1.1.2. Faktori, kas ietekmē asins plūsmu transplantētajā brīvajā lēverī.....	13
1.1.3. Pacientu izvērtēšana pirms operācijas un anestēzijas	14
1.1.4. Patofizioloģiskie apsvērumi anestēzijas laikā.....	15
1.1.5. Anestēzijas metodika mikrovaskulāro brīvo lēveru ķirurģijā	17
1.1.6. Aprūpe pēc anestēzijas	19
1.2. Ķirurģijas un anestēzijas ietekme uz imūnsistēmu	20
1.2.1. Ķirurģijas ierosinātā imūnsupresija.....	20
1.2.2. Perioperatīvās imūnsupresijas mehānismi	20
1.2.3. Anestēzijas vielu ietekme uz imūno sistēmu.....	23
1.2.4. Perioperatīvās imūnsupresijas klīniskās sekas	24
1.2.5. Pasākumi perioperatīvās imūnsupresijas mazināšanai	25
1.2.6. Reģionālās anestēzijas labvēlīgā ietekme uz imūno sistēmu	26
1.3. Cilvēka 6. un 7. herpesvīruss (HHV-6 un HHV-7)	26
1.3.1. HHV-6 un HHV-7 atklāšanas vēsture un klasifikācija	26
1.3.2. HHV-6 un HHV-7 uzbūve un replikācija	27
1.3.3. HHV-6 šūnu tropisms, veidi, transmisija un epidemioloģija	29
1.3.4. HHV-7 šūnu tropisms, transmisija un epidemioloģija.....	31
1.3.5. HHV-6 un HHV-7 infekciju veidi.....	32
1.3.6. Imūnmodulācija.....	34
1.3.7. HHV-6 un HHV-7 infekcijas klīniskās izpausmes	36
1.3.8. HHV-6 un HHV-7 infekcija un ārstēšana	37
2. MATERIĀLS UN METODES.....	38
2.1. Pētījuma dizains un iekļaušanas kritēriji	38
2.2. Pacientu izlase.....	40
2.3. Anestēzijas nodrošināšana	48
2.4. Vīrusu infekcijas diagnostikas metodes.....	51
2.4.1. DNS sagatavošana un kvalitātes pārbaude.....	51
2.4.2. HHV-6 genoma secības noteikšana ar nPKR.....	52
2.4.3. HHV-7 genoma secības noteikšana ar nPKR.....	53
2.4.4. Vīrusu slodzes noteikšana ar reālā laika PKR.....	54
2.5. Limfocītu subpopulāciju noteikšana.....	55
2.6. Citokīnu ekspresijas līmeņa analīze.....	55
2.7. Pielietotās statistikas metodes.....	56

3. REZULTĀTI	57
3.1. HHV-6 infekcijas sastopamība pētījuma un kontroles grupās pirms un pēc operācijas	57
3.2. HHV-7 infekcijas sastopamība pirms un pēc operācijas pētījuma un kontroles grupās	61
3.3. Ķirurģiskās operācijas un anestēzijas ietekme uz imūno šūnu skaita izmaiņām	66
3.4. Imūno šūnu skaita izmaiņas saistībā ar HHV-6 un HHV-7 infekciju	69
3.5. Ķirurģiskās operācijas un anestēzijas ietekme uz IL-1 β , IL-2, IL-6 un TNF- α koncentrāciju	70
3.6. HHV-6 un HHV-7 infekcijas iespējamā saistība ar ķirurģisko iznākumu	72
3.7. Klīniskā gadījuma apskats	79
4. DISKUSIJA	81
SECINĀJUMI	86
PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS	87
IZMANTOTĀ LITERATŪRA	88
PUBLICĒTIE RAKSTI	101
TĒZES UN DALĪBA STARPTAUTISKAJĀS KONFERENCĒS	102
TĒZES UN DALĪBA KONFERENCĒS LATVIJĀ	104

DARBĀ LIETOTIE APZĪMĒJUMI

AKTH	adrenokortikotropais hormons (angl. <i>adrenocorticotropic hormone</i>)
CMV	citomegalovīruss (angl. <i>cytomegalovirus</i>)
CD4+ T limfocīti	helperi/regulatorās šūnas (angl. <i>T helper cells/regulatory cells</i>), kas regulē imūnos procesus
CD8+ T limfocīti	citotoksiskās/supresorās šūnas (angl. <i>T cytotoxic cells / suppressor cells</i>); citotoksiskās šūnas iznīcina vīrusu inficētās un audzēju šūnas, supresorās šūnas regulē imūno atbildi
CD16+ limfocīti	naturālo killeru šūnas (angl. <i>natural killers</i>), kas iznīcina vīrusu inficētās un audzēju šūnas
CD38+ limfocīti	aktivētie limfocīti (angl. <i>activated lymphocytes</i>)
CD38+	limfocītu aktivācijas marķieris, ko ekspresē T, B limfocīti un CD16+ limfocīti
CVP	centrālais venozais spiediens (angl. <i>central venous pressure</i>)
DNS	dezoksiribonukleīnskābe (angl. <i>Deoxyribonucleic acid – DNA</i>)
ELISA	enzimātiskā imūnfermentatīvā reakcija (angl. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
EtCO ₂	frakcionētā izelpojamās ogļskābās gāzes koncentrācija (angl. <i>end tidal CO₂</i>)
FiO ₂	frakcionētā ieelpojamā skābekļa koncentrācija (angl. <i>fraction of inspired oxygen</i>)
GVHD	transplantāta atgrūšanas reakcija (angl. <i>graft versus host disease</i>)
HHV-6	cilvēka herpesvīruss 6 (angl. <i>human herpesvirus 6</i>)
HHV-7	cilvēka herpesvīruss 7 (angl. <i>human herpesvirus 7</i>)
MAK	minimālā alveolārā koncentrācija (angl. <i>minimum alveolar anesthetic concentration – MAC</i>)
MCH	galvenais audu saderības gēnu komplekss (angl. <i>major histocompatibility complex</i>)
n	izlases apjoms vai skaits (angl. <i>sample size</i>)
NF1	1-tipa neurofibromatoze (angl. <i>neurofibromatosis type 1</i>)
p	p lielums (angl. <i>p-value</i>)
PĶR	polimerāzes ķēdes reakcija (angl. <i>polymerase chain reaction – PCR</i>)
RA	reģionālā anestēzija (angl. <i>regional anaesthesia</i>)
SaO ₂	hemoglobīna piesātinājums ar skābekli (angl. <i>oxygen saturation</i>)
VA	vispārējā anestēzija (angl. <i>general anaesthesia</i>)

IEVADS

Tēmas aktualitāte

Mikrovaskulārā brīvā lēvera ķirurģija ir plastiskās ķirurģijas daļa, ko izmanto, lai slēgtu tādus plašus mīksto un cieto audu bojājumus, kurus nav iespējams slēgt primārā ceļā, neradot pārmērīgu audu iestiepumu. Šādu plašu audu bojājumu biežākie cēloņi ir dažādas traumas, apdegumi, infekciju radīti audu bojājumi, stāvoklis pēc plašām ļaundabīgu audzēju operācijām.

Mikrovaskulārās brīvā lēvera ķirurģijas primārais mērķis ir operācijas ceļā atjaunot vai uzlabot kāda orgāna funkcijas vai pārveidotas un izkropļotas organisma virsmas formu, izvairīties no ekstremitātes pilnas vai daļējas amputācijas, atjaunot tās funkcijas un sākotnējo kosmētisko izskatu, palielinot pacientu potenciālās darbaspējas, kā arī mazināt psiholoģisko traumu, ko rada ķermeņa daļas zaudējums, piemēram, dot iespēju sievietēm atgūt krūtis pēc mastektomijas, tādējādi atjaunojot sieviešu pašcieņu un sievišķības sajūtu (*Thorne, 2006*). Rekonstruktīvajā ķirurģijā audus (piem., kaulu, muskuli) kopā ar asinsvadiem pārvieto no tuvas vai attālas donora vietas uz bojāto vietu – recipienta vietu (*Shaw, 1983; Thorne, 2006*). Mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas parasti ir ilgstošas, plaša apjoma un traumatiskas.

Ilgstošas ķirurģiskās operācijas var izraisīt dažāda veida imunoloģiskos traucējumus, kuri izpaužas kā vispārējs imūnsupresīvs stāvoklis pēcoperācijas periodā, kura smagums ir proporcionāls audu bojājama plašumam (*Decker, 1999; Welch, 1981*).

Izmaiņas imūnajā sistēmā perioperatīvajā periodā ir sekas ķirurģiskajai traumai un tai sekojošajai neiroendokrīnajai atbildes reakcijai. Hipotalāma-hipofīzes-virsnieru ass aktivizēšanās ir galvenā atbildes reakcija, un tā kalpo par starpnieku starp ķirurģiju un imūno sistēmu (*Chrousos, 1995; Kennedy, 1999*). Operācijas izraisītās imūnsupresijas rašanās pamatā ir dažādu faktoru iedarbība uz imūnās sistēmas šūnu komponentiem.

Operācijas radītā trauma izraisa kopējo leukocītu skaita pieaugumu organismā (*Redmond, 1994*). Pārbaudot leukocītu subpopulācijas, ir secināts, ka šīs subpopulācijas tiek apspiestas gan skaitliski, gan funkcionāli. Cirkulējošo limfocītu skaits samazinās perioperatīvajā periodā, un samazinājuma lielums un ilgums ir saistīts ar ķirurģijas apjomu (*Cristaldi, 1997; Leaver, 2000; Moudgil, 1986*). Imūnā atbilde tiek nomākta proporcionāli veiktās operācijas apjomam. Liela apjoma operācijas, piemēram, kuņģa un kolorektālā ķirurģija, daudz būtiskāk nomāc šūnu imunitāti nekā mazāk traumatiskas operācijas, piemēram, holecistektomija vai strumektomija. Šo imūnās sistēmas nomākumu atspoguļo imūnsupresiju veicinošo Tγδ šūnu migrācija no perifērajām asinīm uz perifērajiem

limfoīdajiem orgāniem. Pēc gastrektomijas tiek novērots būtisks kumulatīvais Tγδ CD4 un Tγδ CD25 limfocītu skaita samazinājums (Gryglewski, 2017).

Ne tikai operācija, bet arī izmantotā anestēzijas metode var atstāt iespaidu uz imūno funkciju. Paralēli operācijas stresa izraisītajam imūnsistēmas nomācumam arī anestēzijas un pretsāpju līdzekļiem, ko izmanto perioperatīvajā periodā, var būt tieša toksiska iedarbība uz imūnsistēmas komponentiem. Piemēram, ir dati, ka vispārējās anestēzijas līdzeklis propofols nomāc neitrofilu un makrofāgu hemotaksi un fagocitozi (Chen, 2003; Wu, 2005), taču ir pierādīts, ka propofolam ir mazāk izteikta ietekme uz cirkulējošo limfocītu skaitu nekā citiem anestēzijas līdzekļiem, piemēram, sevoflurānam (Kitamura, 2008). Ir pierādījumi, ka spinālā anestēzija ir mazāk imūnsupresīva, jo mazāk ietekmē T limfocītu proliferāciju (Le Cras, 1998).

Ir pierādīts, ka imūnā atbilde pēc operācijas saglabājas nomākta līdz trim nedēļām. Piemēram, NK šūnu funkcija pēc plašas olnīcu vēža operācijas normalizējas 21 dienas laikā (Brøchner, 2016).

Cilvēka herpesvīruss-6 (HHV-6) un herpesvīruss-7 (HHV-7) ir plaši izplatīti limfotropi herpesvīrusi, ar kuriem inficējas agrā bērnībā un kuri saglabājas cilvēka organismā visā dzīves periodā. Tiem piemīt spēja ietekmēt organisma imūno sistēmu. Pēdējā laikā tiek pievērsta lielāka uzmanība beta-herpevīrusu infekcijas nozīmei daudzu hronisku slimību attīstībā, taču vienota viedokļa par to joprojām nav. HHV-6 un HHV-7 var tikt reaktivēti imūnsupresīvo faktoru ietekmē, un tiem pašiem piemīt imūnsistēmu nomācošas īpašības, kas var izraisīt dažādas komplikācijas. Riska grupa ir onkoloģiskie pacienti ar imūnsistēmas disfunkciju, kuru izraisa pamatslimība.

HHV-6 un HHV-7 pieder *Betaherpesvirinae* apakšgrupai un *Roseolovirus* ģintij. HHV-6 tika izolēts 1986. gadā no interleikīna-2 (IL-2) stimulētām perifēro asiņu mononukleārajām šūnām, kuras iegūtas no AIDS pacientiem un pacientiem ar limfoproliferatīvajām slimībām. Ir aprakstīti divi HHV-6 varianti – HHV-6A un HHV-6B.

Kopš atklāšanas brīža HHV-6 infekcija tiek saistīta ar virkni hronisku slimību. HHV-6A bieži diagnosticēts multiplās sklerozes, hroniskā noguruma sindroma, iegūtā imūndeficīta sindroma un vēža slimniekiem. Savukārt HHV-6B izraisa *Roseola infantum*, drudzi un encefalītu zīdaiņiem, un tas reaktivējas transplantācijas pacientiem, izraisot komplikācijas, piemēram, encefalītu, pneimoniju un aknu bojājumu. Nieru transplantācijas pacientiem HHV-6 infekcija ir saistīta ar hroniskas allotransplantāta nefropātijas attīstību un “transplantāts pret saimnieku” reakcijas attīstību (Caiola, 2012; Chapenko, 2009). HHV-7 klīniskā nozīme ir maz dokumentēta, bet tas, iespējams, ir saistīts ar *Pityriasis rosea* attīstību

(Black, 1999; Rebora, 2010). Līdz šim nav veikti pētījumi par iespējamu ķirurģijas un anestēzijas ietekmi uz HHV-6 un HHV-7 reaktivāciju un tās ietekmi uz operācijas iznākumu.

Darba zinātniskā aktualitāte

Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā “Gaiļezers” Mikroķirurģijas centrā gadā tiek veiktas vidēji 30 operācijas, kurās tiek izmantots mikrovaskulārais brīvais lēveris.

Lai gan traumas parasti iegūst praktiski veseli cilvēki, nezināmu iemeslu dēļ daudziem no šiem pacientiem pēcoperācijas periods norit ar dažādiem sarežģījumiem, tostarp septiskām komplikācijām.

Šajā darbā tika pētīta ilgstošu mikrovaskulāro brīvā lēvera operāciju, pielietojot divas atšķirīgas – vispārējās un reģionālās – anestēzijas metodes, saistība ar HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivāciju, izmaiņām imūno šūnu skaitā un to ietekme uz pēcoperācijas perioda norisi.

Ētiskie aspekti

Pētījuma protokols tika apstiprināts Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejā 23.09.2010.

Darba novitāte

1. Pirmo reizi pasaulē analizēta HHV-6 un HHV-7 infekcijas sastopamība ķirurģiskajiem pacientiem, kuriem veiktas ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas.

2. Izpētīts un analizēts, kā ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas, kuras veiktas vispārējā anestēzijā, ietekmē HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivāciju salīdzinājumā ar mikrovaskulārām brīvā lēvera operācijām, kuras veiktas reģionālajā anestēzijā, un kā HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivācija ietekmē pēcoperācijas perioda norisi un ķirurģisko rezultātu.

Darba mērķis

Pētīt dažādu anestēzijas metožu – vispārējās un reģionālās – lietošanu ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās, to saistību ar HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivāciju un šūnu imunitātes izmaiņām, lai atrastu optimālu anestēzijas nodrošinājumu mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās.

Pētnieciskā darba uzdevumi

1. Noteikt HHV-6 un HHV-7 infekcijas klātbūtni un statusu pirms un pēc ilgstošām mikrovaskulārām brīvā lēvera operācijām pacientiem, kuriem izmantota vispārējās vai reģionālās anestēzijas metode.
2. Noteikt imūnkompetento šūnu (limfocītu un to subpopulāciju – CD4+, CD8+, CD16+ CD38+) skaitu pirms un pēc ilgstošām mikrovaskulārām brīvā lēvera operācijām pacientiem, kuriem izmantota vispārējās vai reģionālās anestēzijas metode.
3. Noteikt HHV-6 un HHV-7 infekcijas klātbūtni un statusu pirms un pēc īsām rekonstruktīvām operācijām pacientiem, kuriem izmantota vispārējās vai reģionālās anestēzijas metode.
4. Noteikt imūnkompetento šūnu (limfocītu un to subpopulāciju – CD4+, CD8+, CD16+ CD38+) skaitu pirms un pēc īsām rekonstruktīvām operācijām pacientiem, kuriem izmantota vispārējās vai reģionālās anestēzijas metode.
5. Sniegt ieteikumus anestēzijas metodes izvēlei ilgstošu rekonstruktīvo operāciju gadījumā.

Darba hipotēzes

1. Ilgstoša vispārējā anestēzija mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās salīdzinājumā ar ilgstošu reģionālo anestēziju būtiskāk ietekmē šūnu imūno atbildi, kas var būt saistīta ar HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivāciju.
2. HHV-6 un HHV-7 aktivācija pēc ilgstošām mikrovaskulārām brīvā lēvera operācijām nelabvēlīgi ietekmē operācijas iznākumu un pēcoperācijas perioda norisi.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Anestēzijas nodrošinājums ilgstošām mikrovaskulārām brīvā lēvera operācijām

Gandrīz pusgadsimtu audu pārstādīšanas pamatā no viena ķermeņa reģiona uz citu bija vaskularizēts stiebrs (*tubed pedicle*) (Gillies, 1929; Gillies, 1939). Tukšās zarnas (*jejunum*) izmantošana, lai rekonstruētu barības vada kakla daļu, bija pirmā veiksmīgā brīvo audu pārstādīšana, ko paveica 1957. gadā (Seidenberg, 1959; Roberts, 1961;). Sākotnēji asinsvadu anastomozes veica bez objekta palielinājuma. Tikai 1960. gadā Jacobson un Suarez pirmo reizi aprakstīja mikroķirurģisko anastomožu veikšanu 1,4 mm diametra asinsvados, operācijas laikā izmantojot mikroskopu, kā arī ieviesa jēdzienu “mikrovaskulārā ķirurģija” (Jacobson, 1960). 1964. gadā Nakayama ziņoja par operāciju sēriju, kurās tika izmantots vaskularizēts tievo zarnu segments, lai rekonstruētu barības vada kakla daļu pēc vēža operācijas (Nakayama, 1964). Pēc tam, kad tika ieviesta mikroskopa izmantošana operācijas laikā un veikta virkne eksperimentālu un klīnisku pētījumu (Chase, 1962; Goldwyn, 1963; Jacobson, 1960; Krizek, 1965), mazo asinsvadu caurlaidības rādītāji (*patency rates*) uzlabojās. Medicīnas instrumentu, aprīkojuma, darba organizācijas un speciālistu apmācības turpmākā attīstība nodrošināja ļoti augstus anastomožu caurlaidības rādītājus, un mikrovaskulārā brīvā lēvera ķirurģija kļuva par patstāvīgu plastiskās ķirurģijas daļu. Mūsdienās audu pārvietošana ir iespējama, saglabājot asinsapgādi un vēnu drenāžu. Artērijas un vēnas izolē vaskulāras kājiņas veidā. Pēc audu pārvietošanas uz recipienta vietu tiek izveidotas asinsvadu anastomozes, lai atjaunotu asinsriti un nodrošinātu audu dzīvotspēju.

Lēverus var klasificēt dažādos veidos. Lielie iedalījumi balstās uz lēvera audu sastāvu. Visbiežāk lēverī ir muskulārie (tiek ņemts muskulis), fasciokutānie (ņemta āda, zemāda un fascija), osteokutānie (kauls ar ādas saliņu) un citi audi (Thorne, 2006).

Lēverus iedala arī atkarībā no tā, vai pārstādāmajiem audiem asinsrite tiek vai netiek pilnīgi pārtraukta. Rotēti lēveri ir tādi, kurus izdala uz asinsvadu kājiņas un pārvieto uz bojājuma vietu, nevienā brīdī nepārtraucot audu asins apgādi. Tas mazina barojošā asinsvada trombozēšanās risku. Brīvais lēveris ir audu transplantāts, ko sākotnēji izdala donora vietā uz barojošās asinsvadu kājiņas, pēc tam šos asinsvadus pārgriež, pilnībā pārtraucot asinsriti. Tad notiek audu transplantāta pārvietošana bojājuma (recipienta) vietā, kur tiek veidotas vaskulāras mikroanastomozes ar recipienta vietā esošajiem asinsvadiem, tādā veidā pilnībā atjaunojot asinsriti transplantātā (Thorne, 2006).

Mikrovaskulārās brīvā lēvera ķirurģijas tehnika ir sarežģīta, un, neskatoties uz uzlabojumiem ķirurģiskajās prasmēs, audu hipoperfūzija un transplantēto audu nekroze ir divas būtiskākās lēveru transplantācijas problēmas (*Hidalgo*, 1990).

Anestēzija, nodrošinot optimālu kopējo hemodinamiku un reģionālo perfūziju, ir svarīgs faktors, lai nodrošinātu labu ķirurģisko iznākumu šāda veida operācijās (*Adams*, 2003; *Sigurdsson*, 1995). Tā kā trūkst uz pierādījumiem balstītu rekomendāciju, anestēzijas nodrošināšana šāda veida procedūrām balstās uz patofizioloģiskiem apsvērumiem.

1.1.1. Asins plūsmas patofizioloģija transplantētajā brīvajā lēverī

Lai izprastu anestēzijas nodrošināšanu, ir svarīgi iztīrīt teorētiskos apsvērumus par asins plūsmu brīvos apasiņotos audos.

Hāgena–Puazeila (*Hagen-Poiseuille*) vienādojums norāda: ja plūsma asinsvadā ir lamināra, tad tā svārstās atkarībā no spiediena starpības asinsvada galos un asinsvada rādiusa ceturtais pakāpes, kā arī ir apgriezti proporcionāla asinsvada garumam un asiņu viskozitātei:

$$\Phi = \frac{\Delta P \pi r^4}{8 \eta l}$$

Φ – asiņu plūsma, Δp – spiedienu starpība starp diviem atstatiem asinsvada šķēsgriezumam, r – asinsvada lūmena rādiuss, η – dinamiskā viskozitāte, l – asinsvada garums.

Galvenais faktors, kas nosaka spiediena gradientu, ir sistēmiskais arteriālais spiediens. Fizioloģiska un pacientam adaptēta arteriālā spiediena saglabāšana ar platu pulsa spiedienu ir svarīgākais faktors lēveru izdzīvošanā. Atbilstoša anestēzija, īpaši atsāpināšana un atbilstošs šķidruma pielietojums ir ļoti nozīmīgi (*Hagau*, 2009).

Tā kā asins plūsma ir tieši proporcionāla asinsvada rādiusa ceturtajai pakāpei, tas nozīmē, ka pat neliels asinsvada rādiusa samazinājums un ar to saistītais pretestības pieaugums asinsvadā var izraisīt lielu plūsmas samazinājumu. Tam par iemeslu var būt hipovolēmija vai hipotermija (*Adams*, 2003).

Intravaskulārais spiediens ietekmē asinsvadu diametru; tam samazinoties (hipovolēmija) vai palielinoties ekstravaskulārajam spiedienam (tūska, hematoma), samazinās transmurālais spiediens, kas savukārt rada negatīvu ietekmi uz asinsvadu diametru un asins plūsmu.

Asins viskozitāte ir atkarīga no hematokrīta un asins plūsmas ātruma. Jo augstāks hematokrīts vai zemāks plūsmas ātrums, jo augstāka asiņu viskozitāte, un otrādi – jo zemāks

hematokrīts vai lielāks plūsmas ātrums, jo zemāka viskozitāte (*Manohin*, 2003). Mērenas hemodilūcijas gadījumā samazinātā viskozitāte tiek kompensēta ar pastiprinātu asins plūsmu. Asins viskozitāte lielajos asinsvados ir hematokrīta kvadrātfunkcija, savukārt mikrovaskulārā viskozitāte ir sistēmiskā hematokrīta vāja funkcija (*Martini*, 2006).

Asinsrites mikrocirkulārajā daļā par viskozitāti signalizē endotēlija šūnas. Tam kalpo plazma – slānis starp eritrocītiem un glikokaliksu (*glycocalyx*) uz asinsvadu šūnu virsmas. Bīdes spriegums (*shear stress*) kapilāros ir atkarīgs no plazmas viskozitātes. Ekstrēmas hemodilūcijas gadījumā optimāla sirds izsviede laikā vairs nevar tikt nodrošināta. Līdz ar to asins plūsma vairs neveido pietiekamu bīdes spriegumu, kas nepieciešams, lai atbrīvotos no bīdes sprieguma atkarīgie mediatori. Rezultātā tas noved pie samazinātas kapilāru perfūzijas (*Tsai*, 1998).

Plazmas viskozitāte regulē sistēmisko un mikrovaskulāro perfūziju akūtas, ekstrēmas anēmijas gadījumā (*Cabrales*, 2006). Saglabājot hematokrītu aptuveni 30% robežās, tiek saglabāta asins viskozitāte starp 3,5 un 4 cP (fizioloģiskā vērtība 4,5 cP). Šajā gadījumā ir iespējams uzturēt atbilstošu audu perfūziju (*Cabrales*, 2007).

1.1.2. Faktori, kas ietekmē asins plūsmu transplantētajā brīvajā lēverī

Neskatoties uz uzlabotām ķirurģijas metodēm, mikrovaskulārās brīvā lēvera ķirurģijas iznākums var būt neveiksmīgs pat ķirurģiem ar vislielāko pieredzi šāda veida operāciju veikšanā. Ir pierādīts, ka pirmajās 6 līdz 12 stundās pēc operācijas, salīdzinot ar stāvokli pirms transplantācijas, asins plūsma brīvā lēvera audos samazinās uz pusi (*Hallock*, 1992). Jebkura turpmāka asins plūsmas samazināšanās padziļina lēvera išēmiju.

Būtiski ir sekot infūziju apjomam. Kristaloīdu apjomam pārsniedzot 130 ml/kg dienā vai 7 litrus operācijas laikā, pieaug vispārējās un lēvera komplikācijas (*Booi*, 2011; *Chappell*, 2008; *Clark*, 2007; *Haughey*, 2001; *Patel*, 2010; *Zhong*, 2013).

Ir būtiski paturēt prātā, ka hipotermija, hipovolēmija un sāpes izraisa asinsvadu sašaurināšanos (*MacDonald*, 1985).

Būtiski ir sekot mākslīgās plaušu ventilācijas parametriem, nepieļaujot ne hiperventilācijas, ne hipoventilācijas attīstību. Hiperventilācijas izraisītā respiratorā alkaloze ir saistīta ar sirds izsviedes samazināšanos un perifēro asinsvadu sašaurināšanos (*MacDonald*, 1985). Hipoventilācija savukārt izraisa respiratoro acidozi, kas samazina eritrocītu deformējamību un paaugstina kateholamīnu atbrīvošanos (*MacDonald*, 1985).

Hiperoksijas izraisa asinsvadu sašaurināšanos un samazina funkcionālo kapilāru blīvumu (*Bertuglia*, 1991; *Messina*, 1994; *Tsai*, 2003). Hiperoksiju izraisošas ventilācijas

rezultātā palielinās audu PO_2 , kas izraisa asinsvadu sašaurināšanos un perfūzijas samazināšanos. Hiperoksijas radītā ietekme uz mikrovaskulāro hemodinamiku ir pētīta, izmantojot intravitālo mikroskopiju (*Tsai, 2003*). Veicot tiešos mikrocirkulācijas mērījumus, ir konstatēta arteriolu sašaurināšanās, mikrovaskulārās plūsmas samazināšanās un ievērojams kapilāru funkcionālā blīvuma samazinājums. Hiperoksija noved pie nevienmērīgas perfūzijas mikrocirkulācijas līmenī.

Jebkuras etioloģijas izraisīta hipotensija (hipovolēmija, medikamentu izraisīta miokarda kontrakciju samazināšanās, zema sirds izsviede, spinālās vai epidurālās anestēzijas izraisīts plašs simpātiskais bloks) var kalpot par iemeslu samazinātai asins plūsmai brīvajā lēverī (*Hagau, 2009*).

1.1.3. Pacientu izvērtēšana pirms operācijas un anestēzijas

Pacientu izvērtēšanas mērķis pirms operācijas un anestēzijas ir mazināt ar operāciju un anestēziju saistītos riskus un komplikāciju rašanās biežumu. Ņemot par pamatu pirmsoperācijas novērtējumu, anesteziologs izstrādā anestēzijas plānu, kas novērš pacienta slimības izraisītās briesmas. Mikrovaskulāro brīvo lēveru operāciju gadījumā pacientam anestēzijas plāns ir atkarīgs no pacienta vispārējā veselības stāvokļa, un svarīgi ir nodrošināt optimālu asins plūsmu pārstādītajā brīvajā lēverī.

Pirms anestēzijas uzsākšanas svarīgi ir saprast, kāda ir plānotā operācija, kāds ir operācijas mērķis un vai pacients spēs šo operāciju izturēt blakusslimību dēļ (*Jones, 2007; Ozkan, 2005; Pohlenz, 2007; Suh, 2004*).

Pirmsanestēzijas pacientu ķirurģiskais novērtējums ietver recipienta vietas un iespējamo donora vietu novērtējumu, šos elementus saskaņojot ar pacienta pozicionēšanu, monitoringu un infūzijas sistēmām (*Shermak, 2006*).

Vairums pacientu, kuriem veic šādas operācijas, ir jauni un veseli cilvēki, kuriem operācijas tiek veiktas ar nolūku likvidēt sekas pēc dažāda rakstura traumām. Mikrovaskulārā brīvā lēvera ķirurģija bieži tiek izmantota, lai atjaunotu audus pēc ļaundabīgu audzēju rezekcijas. Šādiem pacientiem var būt būtiski izmainīta organisma homeostāze.

Pacienti ar galvas un kakla vēzi bieži vien ir gados vecāki smēķētāji un alkohola lietotāji. Viņiem var būt nozīmīgas sirds un elpošanas blakusslimības, kā arī nepietiekams barojums. Īpaša riska grupa ir pacienti, kuriem iepriekš ir veikta ķīmijterapija vai staru terapija, jo viņiem var būt būtiski izmainīta elpceļu anatomija un ir laicīgi jāgatavojas sarežģītai intubācijai.

Vecums pats par sevi nav uzskatāms par šķērsli rekonstruktīvajai brīvā lēvera ķirurģijai (*Khoury*, 1998; *Serletti*, 2000). Vecāka gadagājuma pacientiem nav nepieciešama “īpaša” anestēzija. Nav arī pierādītas atšķirības klīniskajā iznākumā gados vecākiem pacientiem atkarībā no tā, vai tiek izmantota vispārējā vai reģionālā anestēzija. Tomēr ilgstoša dziļas anestēzijas uzturēšana gados vecākiem pacientiem ir saistīta ar augstāku mirstību pirmajā pēcoperācijas gadā (*Weldon*, 2002). Daudziem smēķējošiem pacientiem ir hroniska obstruktīva plaušu slimība. Hiperkapnija, hipoksija un samazināts forsētais izelpas tilpums pirmajā sekundē ir saistīts ar paaugstinātu pēcoperācijas plaušu komplikāciju risku (*McAlister*, 2003). Pirms operācijas pacientiem jāiesaka pārtraukt smēķēšanu. 6–8 nedēļu ilga atturēšanās no smēķēšanas ievērojami uzlabo elpošanas funkciju (*Barrera*, 2005; *Nakagava*, 2001).

Cukura diabēts ir biežākā endokrīnā saslimšana ķirurģiskiem pacientiem, kas ir saistīta ar asinsvadu komplikācijām un paaugstinātu pēcoperācijas saslimstību. Akūta un hroniska hiperglikēmija var radīt asinsvadu caurlaidības pieaugumu un pieaugošu audu tūskas veidošanās risku (*Scalia*, 2007). Audu tūska var palielināt ekstravaskulāro spiedienu, kam ir negatīva ietekme uz asinsvadu diametru brīvajā lēverī. Tāpēc rūpīga glikozes kontrole ir obligāti nepieciešama, lai samazinātu vielmaiņas traucējumus un uzturētu optimālu lēvera perfūziju.

1.1.4. Patofizioloģiskie apsvērumi anestēzijas laikā

Rekonstruktīvajā ķirurģijā anestēzijas mērķis ir nodrošināt optimālu asinsriti vaskularizētajā brīvajā lēverī. Lai to panāktu, svarīgi ir nodrošināt hiperdinamisku cirkulāciju un normālu ķermeņa temperatūru. Normāla ķermeņa temperatūra novērš perifēro vazokonstrikciju.

Hiperdinamisku cirkulāciju var nodrošināt ar hipervolēmisku vai normovolēmisku hemodilūciju, kā arī samazinot kopējo vaskulāro pretestību (*Sigurdsson*, 1995).

Hipervolēmiska hemodilūcija, kas panākta ar kristaloīdu un koloīdu šķīdumiem, palielina asins plūsmu normālos audos un, iespējams, arī transplantētajā brīvajā lēverī (*Sigurdsson*, 1995).

Normovolēmiska hemodilūcija ir alternatīva hipervolēmiskai hemodilūcijai (*Adams*, 2003; *Sigurdsson*, 1995).

Esošie dati atspoguļo korelāciju starp liela apjoma kristaloīdu infūziju perioperatīvajā periodā un medicīniskām un lēvera komplikācijām (*Booi*, 2011; *Patel*, 2010; *Zhong*, 2011). Retrospektīvā pētījumā, kurā tika analizēti 104 pacienti, kuriem veikta brīvā lēvera operācija

ar TRAM (*transverse rectus abdominis myocutaneous*) lēveri ir konstatēts, ka lēvera revīzija anastomožu trombozes dēļ biežāk bijusi nepieciešama tiem pacientiem, kuri operācijas laikā saņēma būtiski lielāku infūziju tilpumu (Patel, 2010). Retrospektīvā pārskatā par 354 pacientiem, kuriem tika veikta krūts rekonstrukcijas operācija, ir konstatēts, ka kristaloīdu infūzijas ātrums ir nozīmīgs, neatkarīgs komplikāciju prognostiskais faktors (Zhong, 2011).

Būtiska ir centrālā venozā spiediena (CVP) kontrole perioperatīvajā periodā. Lai gan CVP nesniedz precīzu informāciju par perifērās cirkulācijas stāvokli, CVP sniegtās tendences klīniski ir ļoti svarīgas. Tās jāvērtē kontekstā ar citiem rādītājiem – diurēzi, starpību starp centrālo un perifēro temperatūru (Δt), tā iegūstot klīniski ļoti noderīgu informāciju. Parasti ieteiktās CVP mērķa vērtības ir 10–15 cm H₂O vai 3–5 cm H₂O virs sākotnējiem rādītājiem.

Korekti kalkulējot infūzijas apjomu, galvenokārt ir jāvadās pēc pacienta klīniskajiem parametriem – asinsspiediena, sirdsdarbības frekvences un diurēzes. Būtiski vērā ņemami faktori ir arī asiņu zudums operācijas laikā un neredzami šķidruma zudumi (*perspiratio insensibilis*). Kā ideāls pārlejamo kristaloīdu tilpums 24 stundu perioperatīvajā periodā tiek ieteikts 3,5–6 ml/kg/stundā (pierādījumu līmenis 2b) (Zhong, 2011). Ievadīto kristaloīdu apjoms operācijas laikā nedrīkst pārsniegt 7 litrus vai 130 ml/kg/24 stundās (pierādījumu līmenis 2b) (Clark, 2007; Haughey 2001; Motakef, 2015).

Hemoglobīna vērtība zem 10 g/dl pirms operācijas ir saistīta ar lēvera trombozi un nelabvēlīgu operācijas iznākumu (Hill, 2012). Nesen publicētā retrospektīvā pārskatā ir norādīts, ka intraoperatīva asins pārliešana ir saistīta ar biežākām komplikācijām, atkārtotām pēcoperācijas asins pārliešanām un atkārtotām operācijām un paaugstinātu mirstību (Fischer, 2014; Kim, 2014). Citos pētījumos ir pierādīta saikne starp asins pārliešanu un brūču infekcijas attīstību (Karakida, 2010; Liu, 2007). Hemoglobīns un hematokrīts ir jāoptimizē pirms operācijas (hematokrīts > 30%, hemoglobīns > 10 g/dl) (pierādījumu līmenis 2b) (Clark, 2007; Hill 2012; Motakef, 2015). Ņemot vērā asins pārliešanas saistību ar lēvera komplikācijām, tā ir jāveic piesardzīgi, un tiek ieteikta ierobežojoša asins pārliešanas stratēģija. Ir pierādīts, ka asins pārliešana ir indicēta pacientiem, kuriem ir klīniska simptomātika vai tiem, kuriem hemoglobīna līmenis ir zemāks par 7 g/dl (pierādījumu līmenis 2b) (Fischer, 2014). Nesen publicētā pētījumā ar 512 pacientēm, kurām tika veikta mikrovaskulāra krūšu rekonstrukcija, tika pierādīts, ka restriktīva perioperatīva asins pārliešana nepalielina komplikāciju biežumu (O'Neill, 2016).

Attiecībā uz intraoperatīvās temperatūras kontroli esošie dati ir pretrunīgi. Piemēram, pētījumā žurku modelī tika konstatēts, ka hipotermija ir saistīta ar augstāku brīvā lēvera izdzīvošanu (Thomson, 2009). Citā retrospektīvā kohortas pētījumā, kurā tika veikta 212 pacientu datu analīze, ir konstatēts, ka viegla hipotermija robežās no 36,0 °C līdz 36,4 °C

korelē ar zemāku trombožu biežumu (*Liu, 2011*). Tomēr vairumā pētījumu hipotermija (centrālā temperatūra zemāka par 35 °C) ir saistīta ar perioperatīvajām komplikācijām (*Hill, 2012; Sumer 2009*). Citā retrospektīvā pētījumā, kurā tika iekļauti 156 pacienti, konstatēts, ka intraoperatīva hipotermija (vidējā centrālā temperatūra zemāka nekā 37 °C, minimālā centrālā temperatūra zemāka nekā 34,5 °C) korelē ar infekcijas attīstību lēvera recipienta vietā, taču nav pierādīta saistība ar trombožu biežumu un lēvera izdzīvošanu (*Hill, 2012*). Hipotermijas attīstību operācijas laikā veicina vairāki faktori. Pacientiem bieži ir ilgstoši atkailināti plaši ķermeņa virsmas laukumi, kas tieši veicina hipotermijas attīstību. Arī anestēzijas līdzekļi negatīvi ietekmē termoregulāciju. Lai izvairītos no komplikāciju attīstības perioperatīvajā periodā, ir rūpīgi jākontrolē pacienta centrālā temperatūra, jo ir pierādīta korelācija starp hipotermiju un komplikāciju biežumu. Lai izvairītos no iespējamām komplikācijām, tiek rekomendēts uzturēt ķermeņa centrālo temperatūru virs 35 °C (pierādījumu līmenis 2b) un vidējo perifēro ķermeņa temperatūru virs 37 °C (pierādījumu līmenis 2b) (*Motakef, 2015*). Temperatūrai operācijas zālē pirms pacienta atvešanas ir jābūt aptuveni 24 °C (*Gardiner, 2010*). Perioperatīvajā periodā paralēli ir jāveic arī citi preventīvi pasākumi, lai pasargātu pacientus no draudošas hipotermijas. Tiek ieteikts pacientus sildīt pirms anestēzijas uzsākšanas, operācijas laikā un 24–48 stundas pēc operācijas. Sildīšanas mērķis ir panākt un uzturēt mazāku nekā 2 °C starpību starp centrālo un perifēro temperatūru (*Hagau, 2009*). Augsts temperatūras gradients liecina par hipovolēmiju un samazinātu sirds izviedi. Neveicot nekādus preventīvos pasākumus, hipotermija var attīstīties 50–90% gadījumu no visām ķirurģiskajām operācijām (*Young, 2006*). Reģionālā anestēzija ievērojami pasliktina termoregulāciju, ietekmējot vazomotorās reakcijas, kā rezultātā siltums tiek pārdalīts no ķermeņa centrālās daļas uz perifēriju. Reģionālā anestēzija nenomāc drebuļus un ķermeņa temperatūras zudumus (*Matsukawa, 1995; Joris, 1994*).

1.1.5. Anestēzijas metodika mikrovaskulāro brīvo lēveru ķirurģijā

Lai panāktu optimālu operācijas rezultātu mikrovaskulāro brīvo lēveru ķirurģijā, ir pētītas dažādas anestēzijas stratēģijas. Dati par anestēzijas metodes ietekmi uz brīvā lēvera operācijas iznākumu ir ierobežoti, un nav skaidrs, cik lielā mērā operācijas rezultāti var mainīties atkarībā no anestēzijas metodes. Maz ir zināms par to, kā anestēzijas līdzekļi ietekmē svarīgus mikrovaskulāros parametrus, kam ir būtiska loma šķidruma sadalījumā (*Hahn, 2002; Lucchinetti, 2007*).

Balansētā vispārējā anestēzija ir optimāla izvēle ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera ķirurģijas gadījumā (*Hagau, 2008, Motakef, 2015*). Izoflurāns nomāc miokarda kontrakcijas

mazāk nekā halotāns, samazina asinsvadu sistēmisko pretestību, nodrošinot muskuļu un ādas vazodilatāciju, tādējādi kļūstot par izvēles anestēzijas līdzekli mikrovaskulārajā ķirurģijā (Hagau, 2008). Izoflurāns, desflurāns un sevoflurāns vienādi ietekmē sirdsdarbības frekvenci un asinsspiedienu. Sevoflurāns un desflurāns ir piemēroti inhalācijas anestēzijas līdzekļi gados veciem augsta riska cilvēkiem, jo saglabā ventrikulāro funkciju personām ar koronāro sirds slimību (De Hert, 2003).

Izvērtējot datubāzēs atrodamos pētījumus par dažādu anestēzijas vielu izmantošanu mikrovaskulārajā brīvo lēveru ķirurģijā, ir konstatēts, ka visvairāk datu ir attiecināmi uz sevoflurānu. Pamatojoties uz pieejamajiem datiem, sevoflurāns tiek ieteikts kā izvēles līdzeklis vispārējai anestēzijai mikrovaskulārajā brīvo lēveru ķirurģijā. Sevoflurāns iedarbojas izsargājoši uz endotēliju – aizsargā endotēliju no išēmijas-reperfūzijas bojājuma (*ischemia-reperfusion injury*) un aizsargā endotēlija cilmes šūnas, veicinot asinsvadu dzīšanu (pierādījumu līmenis 3b) (Annecke, 2010; Annecke, 2012; Chappell, 2011). Salīdzinot ar propofolu, sevoflurāns mazina kapilāru filtrācijas koeficientu, kas var mazināt transplantētā lēvera tūsku (Bruegger, 2002). Remifentanila infūzijas papildinājums arī ir kļuvis ļoti populārs. Šis īsas iedarbības opioīds nodrošina teicamu intraoperatīvo analgēziju, asinsspiediena kontroli un izteiktu vazodilatāciju. Tas parasti novērš nepieciešamību pēc miorelaksantiem.

Pamošanās un ekstubācijas etapi ir ļoti svarīgi. Vēlams, lai pacients būtu nomodā un atsaucīgs, kontaktējams, un svarīgi ir izvairīties no pārmērīga klepus un rīstīšanās un ar to saistītā arteriālā spiediena paaugstināšanās.

Pirms pārtraukt anestēziju, ļoti svarīga ir optimāla atsāpināšana. Ja operācija ir bijusi īpaši ilgstoša un pastāv bažas par anastomozēm, jāapsver pacienta pārvietošana uz intensīvās terapijas nodaļu, lai nodrošinātu maksimālu plaušu ventilāciju.

Par epidurālās anestēzijas kombināciju ar vispārējo anestēziju rezultāti ir pretrunīgi. Papildu epidurālā anestēzija samazina sirds izsviedi un vidējo arteriālo spiedienu, kas samazina asins plūsmu mikrocirkulācijas līmenī (Banic, 1997; Erni, 1999). Tomēr citi pētījumi liecina, ka šai kombinētajai pieejai ir labvēlīgāki rezultāti, salīdzinot ar gadījumiem, kad lietota tikai vispārējā anestēzija (Bozkurt, 2010; Cayci, 2010). Retrospektīvā pārskatā ir konstatēta korelācija starp kombinēto vispārējo un epidurālo anestēziju apakšējās ekstremitātes brīvo lēveru operācijās un zemāku mikrovaskulāro komplikāciju biežumu, labāku transplantētā lēvera izdzīvošanu un vispārējo iznākumu (Scott, 1993).

Augsta līmeņa pierādījumi atbalsta papildu reģionālās anestēzijas izmantošanu apakšējo ekstremitāšu brīvā lēvera operāciju gadījumā (pierādījumu līmenis 2b) (Cayci, 2010). Ir ziņojumi par brīvo lēveru operācijām, kas veiktas tikai epidurālajā anestēzijā

gadījumā, ja vispārējā anestēzija bijusi kontrindicēta (Alam, 2006; Carey, 2012). Mikrovaskulārajā brīvā lēvera ķirurģijā var tikt izmantotas šādas reģionālās anestēzijas metodes: intraskalēna bloks, kas ir ļoti labs roku un pleca atsāpināšanā, lai gan *n. ulnaris* blokādi ir sarežģīti panākt, un aksilārais bloks, kas tiek bieži izmantots pie rekonstruktīvajām operācijām. Šajos reģionos var tikt ievadīts katetrs, lai nepārtraukti vai periodiski ievadītu lokālo anestēzijas līdzekli vairākas dienas ar nolūku nepārtraukt simpātisko blokādi (Inberg, 1995; Kurt, 2005; Su, 2005).

Attiecībā uz vazopresoru izmantošanu klīniskajos pētījumos pieeja vienmēr ir bijusi konservatīva. Galvenais mērķis ir līdzsvarot asinsvadu sašaurināšanās risku ar iespēju nodrošināt optimālu vidējo arteriālo spiedienu (Chen, 2010; Harris, 2012; Louer, 2013; Monroe 2010; Monroe 2011). Vairākos klīniskajos pētījumos ir pierādīts, ka intraoperatīva vazopresoru izmantošana neietekmē lēvera bojāeju un atkārtotu operāciju biežumu. Turklāt ir pierādīts, ka vazopresoru kumulatīvā deva un laiks nekorelē ar nelabvēlīgu iznākumu (Chen, 2010; Harris, 2012). Prospektīvā pētījumā, salīdzinot epinefrīna, norepinefrīna, dobutamīna un dopeksamīna ietekmi uz asins plūsmu lēverī pēcoperācijas periodā, ir konstatēts, ka dobutamīns un norepinefrīna uzlabo asins plūsmu brīvā lēvera ādā, tostarp norepinefrīns uzrādīja vislabākos rezultātus. Turpretim epinefrīna un dopeksamīna ietekmē asins plūsma lēverī samazinājās (Eley, 2012; Eley, 2013). Neskatoties uz plaši izplatīto rezervēto attieksmi attiecībā uz vazopresoru izmantošanu, pieejamie dati liecina, ka to izmantošanai, lai uzturētu optimālu asinsspiedienu un plūsmu lēverī, var tikt dota priekšroka, salīdzinot ar šķidrums infūziju (Louer, 2013). 2012. gadā veiktā aptaujā starp Amerikas Rekonstruktīvās un plastiskās ķirurģijas biedrības locekļiem ir konstatēts, ka 94,5% respondentu ir norādījuši infūzu terapiju kā galveno terapijas metodi hipotensijas gadījumā (Vyas, 2014).

1.1.6. Aprūpe pēc anestēzijas

Pēcoperācijas aprūpes principi ir tādi paši kā anestēzijas laikā – normotermija, hiperdinamiska cirkulācija, palielināta sirds izsviede, zema asinsvadu sistēmiskā pretestība, normāls asinsspiediens, hematokrīts ap 30%, urīna produkcija vairāk vai vienāda ar 1 ml / kg / h. Piemērota analgēzija un trauksmes ārstēšana samazina cirkulējošo kateholamīnu līmeni un palīdz izvairīties no sāpju reakcijas izraisītas vazokonstrikcijas. Ir jāizvairās no pēcoperācijas drebuļiem, jo tie palielina skābekļa patēriņu, izraisa perifēro asinsvadu sašaurināšanos un samazina asins plūsmu transplantētajā brīvajā lēverī. Nesen veiktā klīniskā pētījumā ir pierādīts, ka ievērojami samazinās pēcoperācijas pretsāpju un pretvemšanas līdzekļu pielietojums, ja pacienti pirms operācijas saņem vienu devu gabapentīna (Chiu,

2012). Citā pētījumā ir konstatēts, ka ketorolaks samazina trombotisku komplikāciju biežumu pēc apakšējo ekstremitāšu brīvā lēvera operācijām (Lee, 2012). Lēvera donora vietas blokāde ar bupivakaīnu ir pierādījusi savu efektivitāti, jo samazinās narkotisko analgētisko medikamentu patēriņš pacienta kontrolētās anestēzijas ietvaros pēcoperācijas periodā (Zhong, 2013). TAP blokāde (*transverse abdominis plane block*) pēc krūšu rekonstrukcijas ievērojami samazina narkotisko pretsāpju līdzekļu patēriņu, vemšanas un sliktas dūšas epizožu skaitu un saīsina uzturēšanās laiku slimnīcā (Wheble, 2013).

Pēc ilgstošas operācijas un anestēzijas hipotermijas ārstēšanas nolūkā bieži var būt nepieciešama sedācija. Starp dažādiem sedācijā izmantojamiem medikamentiem ieteicamais deksmedetomidīns varētu izraisīt potenciālu interesi, jo ir pētījums, kas pierāda, ka deksmedetomidīns palīdz saglabāt mikrocirkulāciju transplantētajā brīvajā lēverī (Motaqef, 2015; Nunes, 2007).

1.2. Ķirurģijas un anestēzijas ietekme uz imūnsistēmu

1.2.1. Ķirurģijas ierosinātā imūnsupresija

Labi funkcionējoša imūnsistēma ir svarīga, lai novērstu pēcoperācijas komplikācijas un sepsi. Pēcoperācijas periodā pēc jebkuras liela apjoma operācijas ir raksturīga ievērojama iekaisuma reakcija, imūnsistēmas nomākums, kas rodas vairāku faktoru mijiedarbības rezultātā. Šie faktori ir operācijas stress, hipotermija, anestēzijas un pretsāpju līdzekļi, mākslīgā plaušu ventilācija un pacienta pamatslimība. Klīniskās izpausmes ir vispārēja imūnsupresija pēcoperācijas periodā, un tās izpausmes pakāpe daļēji ir atkarīga no ķirurģiskās traumas lieluma. Klīniskās sekas ir neskaidras. Traucētai imūnās atbildes reakcijai pēcoperācijas periodā, iespējams, ir saistība ar paaugstinātu pēcoperācijas infekcijas un sepses attīstības risku. Onkoloģiskajiem slimniekiem tas palielina vēža progresijas risku (Cata, 2013; Desborough, 2000; Hogan, 2011).

1.2.2. Perioperatīvās imūnsupresijas mehānismi

Galvenie traucētas imūnās atbildes cēloņi ķirurģiskiem pacientiem ir labi zināmi un saistīti ar autonomo nervu sistēmu un hipotalāma-hipofīzes-virsnieru asi (HPA). HPA aktivizēšanās ir galvenā atbilde uz stresu, un tai ir galvenā starpnieka loma starp ķirurģisko iejaukšanos un imūno sistēmu (Kennedy, 1999; Kurosawa, 2008).

Hormonālajai atbildes reakcijai uz ķirurģisku iejaukšanos ir raksturīga palielināta stresa hormonu sekrēcija. Adrenalīns un kortizols ir ievērojamākie stresa marķieri. Paralēli

minētajiem marķieriem ķirurģiskajiem pacientiem tiek novērota arī glikagona, augšanas hormona, aldosterona un antidiurētiskā hormona sintēze. Tiek uzskatīts, ka šie mehānismi vismaz daļēji norit ar nervu sistēmas starpniecību. Par neirogēno stimulu lomu liecina fakts, ka subarahnoidālā vai epidurālā anestēzija samazina stresa hormona līmeni (Toft, 2008).

Gan intraoperatīva, gan postoperatīva AKTH un kortizola koncentrācija korelē ar ķirurģiskās traumas apjomu (Ni Choileain, 2006). Perioperatīvā stresa veicinātā AKTH produkcija hipofīzē un sekojošā kortizola izdale no virsnierēm var saglabāties vairākas dienas pēc operācijas. Glikokortikoīdi, kā zināms, nomāc šūnu imunitāti (Larsson, 1980). Pastāv mijiedarbība starp neiroendokrīno stresa reakciju un imunoloģisko reakciju uz audu bojājumu (Salo, 1992). Operācijas radītā trauma izraisa kopējo cirkulējošo leukocītu skaita pieaugumu (Redmond, 1994). Taču, izvērtējot leukocītu apakšgrupas, ir konstatēts, ka kritiski svarīgās apakšgrupas tiek būtiski ietekmētas gan skaita, gan funkciju ziņā. Cirkulējošo limfocītu skaits samazinās perioperatīvajā periodā (Ogawa, 2000; Vallina, 1996), un šis samazinājums ir saistīts ar ķirurģiskās iejaukšanās apjomu (Cristaldi, 1997; Leaver, 2000). Perioperatīvo limfocītu skaita samazināšanos var skaidrot ar samazinātu limfocītu proliferācijas ātrumu (Ferrero, 1986; Salo, 1984) un limfocītu pārvietošanos no perifērajām asinīm uz citām ķermeņa daļām (Toft, 1993). Perioperatīvā limfocītu skaita samazināšanās notiek, galvenokārt samazinoties T limfocītu skaitam, savukārt B limfocītu skaits izmainās nebūtiski (Lennard, 1985, Ogawa, 2000). Ķirurģiskā stresa reakcija ir saistīta ar granulocītu un makrofāgu uzkrāšanos bojātajos audos (Toft, 1993). No monocītiem bojātajos audos atbrīvojas proinflammatorie citokīni – IL-1, TNF- α un IL-6. IL-6 stimulē akūtās fāzes proteīnu (CRP, pro-kalcitonīna, C-3 komplementa faktora) sintēzi aknu šūnās un to sekojošu atbrīvošanos. IL-6 līmenis korelē ar audu bojājuma apjomu, operācijas ilgumu un pēcoperācijas komplikāciju risku (Mokart, 2002).

Nespecifiskā imunitāte tiek īpaši nomākta liela ķirurģiskā stresa rezultātā. Nespecifisko imunitāti veido šādas komponentes – neitrofilie leukocīti, monocīti un NK šūnas. Ķirurģiskā stresa rezultātā tiek novērota leukocitoze perifērajās asinīs un granulocītu uzkrāšanās bojājuma vietā (Toft, 1994). Sākotnējās proinflammatorās reakcijas rezultātā granulocītu funkcija perifērajās asinīs parasti ir samazināta (Salo, 1992). Ķirurģiskā stresa rezultātā samazinās arī monocītu MCH II ekspresija un antigēna prezentējošā spēja. Šie funkciju traucējumi saglabājas vienu nedēļu pēc operācijas (Toft, 2008).

NK-šūnas nodrošina pirmās līnijas aizsardzību pret metastāžu izplatīšanos ar asinīm. NK-šūnu aktivitāte tiek nomākta pēc lielām operācijām un smagu slimību gadījumā. Samazināta NK šūnu aktivitāte pēc onkoloģiskām operācijām var veicināt recidīvu attīstību (Walker, 2007).

Ķirurģiskā stresa rezultātā tiek izmainīts T helperu (Th) balanss – samazinās Th1 un pieaug Th2, kas liecina par nomāktu šūnu imunitāti (*Ni Choileain, 2006; Toft, 2008*). T limfocītu skaits ne tikai samazinās, bet tiek izjaukts līdzsvars starp T limfocītu subpopulācijām. Samazinās T helperu skaits un T citotoksisko šūnu skaits, bet pieaug T supresoro šūnu skaits. Šī izjauktā līdzsvara dēļ, kas saglabājas līdz divām nedēļām pēc operācijas, pieaug T regulatoro šūnu īpatsvars pēcoperācijas periodā un imūnās atbildes reakcija tiek būtiski traucēta (*Gryglewski, 2017; Ogawa, 2000*).

T regulatorajām šūnām ir būtiska loma imūnajā homeostāzē, jo tās spēj nomākt T šūnu aktivāciju. Klīniskie pētījumi ir parādījuši, ka T regulatorās šūnas var nomākt specifiskās un nespecifiskās T šūnu atbildes reakcijas un paaugstina audzēju recidīvu risku (*Bates, 2006; Tong-Guo Si, 2013*). Ziņojumi liecina, ka šie traucējumi var būt proporcionāli ķirurģiskās iejaukšanās apjomam. Laparoskopiskajām operācijām ir mazāk izteikta ietekme uz T limfocītu funkciju nekā konvencionālām, atvērtām operācijām (*Decker, 1999; Ishikawa, 2009*).

Imūnā atbilde tiek nomākta proporcionāli veiktās operācijas apjomam. Liela apjoma operācijas, piemēram, -kuņģa un kolorektālā ķirurģija, daudz būtiskāk nomāc šūnu imunitāti nekā mazāk traumatiskas operācijas – holecistektomija vai strumektomija. Šo imūnās sistēmas nomākumu atspoguļo Tγδ šūnu, kuras veicina imūnsupresiju, migrācija no perifērajām asinīm uz perifērajiem limfoīdajiem orgāniem. Pēc gastrektomijas tiek novērots būtisks kumulatīvais Tγδ CD4 and Tγδ CD25 limfocītu skaita samazinājums (*Gryglewski, 2017*).

Ķirurģiskās operācijas ietekmē arī NK šūnu skaitu un funkcijas. Piemēram, NK šūnu skaita samazinājums saglabājas līdz 30 dienām pēc atvērtas holecistektomijas (*Cristaldi, 1997*).

Minimāli invazīvā ķirurģija labāk pasargā pacientu imūno funkciju nekā konvencionālā ķirurģija, mazāk ietekmējot NK šūnu un citotoksisko T šūnu skaitu pēcoperācijas periodā (*Ng, 2015*).

Ir novērots, ka NK šūnu aktivizācija un citotoksicitāte pieaug pēc premedikācijas saņemšanas un ievadanestēzijas uzsākšanas. Imūnā atbilde pēc operācijas saglabājas nomākta līdz 3 nedēļām, piemēram, NK šūnu funkcija pēc plašas olnīcu vēža operācijas normalizējas tikai 21 dienas laikā (*Brøchner, 2016*).

NK šūnas nodrošina pirmās līnijas aizsardzību pret audzēju metastazēšanos hematogēnā ceļā. Tādējādi samazināta NK šūnu aktivitāte pēc vēža operācijām var būt ar smagām sekām. Ķirurģija un anestēzija ietekmē arī citas šūnu imunitātes komponentes. Lai gan ir ievērojams skaits ziņojumu, kas liecina par leikocītu skaita pieaugumu pēc operācijas

(Redmond, 1994; van Dijk, 1982), vairāki ziņojumi arī liecina, ka leukocītu fagocitozes funkcijas operācijas rezultātā tiek inhibētas (Kawasaki, 2007; Nakagawara, 1986).

Ķirurģiskā iejaukšanās nomāc arī neitrofilo leukocītu kustīgumu (Moudgil, 1981) un hipohlorskābes produkciju, kas ir svarīgs pretmikrobu aģents (Carey, 1994).

Anestēzija un operācija vājina monocītu un makrofāgu funkcijas, tostarp hemotaksi un fagocitozi (Chen, 2003; Wu, 2005). Šo funkciju zudums var būt saistīts ar novēroto virsmas HLA-DR ekspresijas trūkumu, kas ir svarīgs komponents antigēnu atpazīšanas procesā (Kawasaki, 2007).

Arī šajā gadījumā laparoskopiskā ķirurģija ir mazāk invazīva nekā konvencionālā ķirurģija (Kloosterman, 1994; Novitsky, 2006).

1.2.3. Anestēzijas vielu ietekme uz imūno sistēmu

Anestēzijā izmantojamo vielu imūnmodulatorie efekti *in vitro* ir demonstrēti jau vairāk nekā pirms 100 gadiem.

Mūsdienās ir vispāratzīts, ka anestēzijas vielu ietekme uz imūno sistēmu, salīdzinot ar to ietekmi, ko rada operācijas vai traumas, ir mērena.

Anestēzijai nedrīkst būt nekāda klīniski nozīmīga ietekme uz imūno funkciju pacientiem.

Mūsdienās anestēziju saņem arvien lielāks skaits gados vecāku pacientu ar nomāktu imunitāti (Toft, 2008).

Virknē pētījumu pierādīta gaistošo anestēzijas vielu nomācošā ietekme uz limfocītu proliferāciju (Hamra, 1996; Salo, 1982; Salo, 1984), ir pierādīta arī šo vielu supresīvā ietekme uz citokīnu atbrīvošanos perifēro asiņu mononukleārajās šūnās (Mitsuhata, 1995; Stevenson, 1986).

Pieejamie dati par propofolu liecina, ka tam piemīt nomācoša ietekme uz neitrofiliem, makrofāgiem un monocītiem, bet ne uz limfocītiem un NK šūnām (Heine, 1996). Propofols nomāc neitrofilo un makrofāgu hemotaksi un fagocitozi (Chen, 2003, Wu, 2005). Taču ir arī pierādīts, ka propofolam ir mazāk izteikta ietekme uz cirkulējošo limfocītu skaitu nekā citiem anestēzijas līdzekļiem, piemēram, sevoflurānam (Kurosawa, 2008).

Opioīdu imūnsupresīvās īpašības ir zināmas jau vairāk nekā gadsimtu. Kaut gan precīzs mehānisms nav zināms, opioīdu izraisītā imūnmodulācijā ir iesaistīti opioīdu receptori, autonomā nervu sistēma un hipotalāma-hipofīzes-virsnieru ass (Carr, 1996; Flores, 1996; Freier, 1993).

Neitrofilie leukocīti un NK šūnas satur μ un δ receptorus, monocīti, makrofāgi un T šūnas satur μ , δ , un κ receptorus (Smith, 2003). Morfīns ietekmē NK šūnu aktivitāti (Beilin, 1992), T limfocītu proliferāciju (Fuchs, 1993), kā arī neitrofilu un makrofāgu fagocitozes aktivitāti (Eisenstein, 1998). Klasiskais μ opioīdu receptors, domājams, ir iesaistīts ar morfīnu saistītā imūnmodulācijā, jo morfīna iedarbība var tikt bloķēta ar morfīna antagonistu naloksonu (Sacerdote, 2003). Pretēji morfīna izraisītajai nomācošajai ietekmei uz imūnajām šūnām, sintētiskajiem opioīdiem (fentanīlam, remifentanīlam) nav nekādas nomācošas ietekmes uz imūno šūnu reakciju, jo šīm vielām ir samazināta mijiedarbība ar īpašiem opioīdu receptoriem. Fentanils, remifentanils un alfentanils nepasliktina neitrofilo leukocītu īstenoto fagocitozi (Jaeger, 1998; Krumholz, 1995). Kaut gan, izmantojot dzīvnieku modeli, vienā eksperimentā ir pierādīts, ka salīdzinoši liela fentanila deva nomāc NK šūnu aktivitāti un to spēju pretoties audzēju metastāzēm (Shavit, 2004). Fentanils klīniskās devās veseliem brīvprātīgajiem palielina NK šūnu un CD8+ citotoksisko T limfocītu skaitu (Yeager, 2002), savukārt cirkulējošo B un T limfocītu skaitu fentanils neietekmē (Jacobs, 1999). Fentanilam nepiemīt spējas saistīties ar $\mu 3$ receptoriem, tāpēc tam nepiemīt spēja mazināt ar operāciju saistīto iekaisuma atbildes reakciju (Bilfinger, 1998).

1.2.4. Perioperatīvās imūnsupresijas klīniskās sekas

Perioperatīvā imūnsupresija dokumentēta jau tālajā 1911. gadā, kad Graham ziņoja, ka ēteris izraisa baktēriju fagocitozes samazināšanos, palielinot pēcoperācijas septisko komplikāciju risku (Graham, 1911).

Gaylord 1916. gadā ir novērojis, ka pēc anestēzijas un asins zuduma pieaug metastāžu biežums pelēm ar krūts vēzi (Hogan, 2011).

Ķirurģiskās operācijas ietekme uz NK šūnu skaitu un aktivitāti ir saistīta ar palielinātu mirstības risku un vēža recidīvu pacientiem ar kolorektālo, krūšu, galvas, kakla un plaušu vēzi (Fujisawa, 1997; Levy, 1985; Schantz, 1987; Tartter, 1987).

Tartter ar līdzautoriem ir apgalvojis, ka zema NK citotoksicitāte preoperatīvajā periodā ir būtisks prognostisks faktors kolorektālā vēža recidīvam (Tartter, 1987).

Samazināta NK šūnu aktivitāte pēcoperācijas periodā ir neatkarīgs izdzīvošanas prognostiskais faktors nesīkšūnu plaušu vēzim (Fujisawa, 1997).

Jebkuras ķirurģiskās operācijas gadījumā perioperatīvā imūndepresija var izraisīt tūlītējas sekas, piemēram, aizkavētu brūču dzīšanu un septiskas komplikācijas. HLA-DR ekspresējošu monocītu samazināšanās perioperatīvajā periodā ir saistīta ar brūču komplikācijām un elpošanas ceļu infekcijām pēc operācijas (Wakefield, 1993).

Duignan un līdzautori ir pierādījuši, ka neitrofilu hemotaksis traucējumi ir saistīti ar septiskām komplikācijām (*Duignan*, 1986).

1.2.5. Pasākumi perioperatīvās imūnsupresijas mazināšanai

Lai samazinātu ķirurģiskas operācijas izraisīto imūnsupresiju, galvenais uzdevums ir panākt pietiekamu sāpju kontroli. Epidurālā analgēzija tiek uzskatīta par optimālu metodi atbilstošiem pacientiem, lai samazinātu ķirurģiskā stresa izraisītu imūndepresiju pēc lielām vēdera dobuma operācijām (*Ahlers*, 2008). Lai gan ir pierādīta opiātu tieša nomācošā ietekme uz imūnsistēmas šūnu aktivitāti, ir konstatēts, ka morfīns pretsāpju devās būtiski samazina operācijas radītos audzēju veicinošos efektus (*Page*, 2001). Iemesli šai pretrunai nav pilnībā noskaidroti.

Sintētiskajam opioīdam tramadolam piemīt mazāks nomācošais efekts uz fagocitējošām šūnām nekā konvencionālajiem opiātiem (*Beilin*, 2005).

Nesteroīdajiem pretiekaisuma līdzekļiem (NPL) piemīt pretiekaisuma īpašības, tie ir arī efektīvi pretsāpju un pretdrudža līdzekļi. NPL samazina prostaglandīna E2 izraisītu imūnsupresiju, tādēļ to izmantošana tiek uzskatīta par piemērotu, lai samazinātu operācijas izraisīto imūnsupresīvo ietekmi (*Mahdy*, 2002).

Citi imūno sistēmu aizsargājošie pasākumi ir asins pārliešanas minimizēšana un optimāla barošana pēcoperācijas periodā (*Kendall*, 2000). Svarīgi ir samazināt ķirurģisko traumatismu, ieviešot mazinvas metodes, piemēram, laparoskopisko ķirurģiju. Tā nodrošina labāku limfocītu apakšgrupu, neitrofilo leikocītu funkciju un šūnu imunitātes saglabāšanu nekā tradicionālā atklātā ķirurģija (*Bessler*, 1994; *Carey*, 1994; *Kehlet*, 1998).

Imūnmodulatori ķirurģijā jau sen ir piesaistījuši lielu uzmanību. Lielākoties ir pētīti imūnsupresanti saistībā ar orgānu transplantāciju. Tomēr ir arī ievērojama interese samazināt ķirurģiskās operācijas izraisīto imūnsupresīvo ietekmi un metastāžu izplatīšanās risku. Šajā saistībā ir veikts ievērojams skaits pētījumu ar dzīvniekiem, kuros ir pierādīts, ka IL-12 piemīt pretaudzēju iedarbība (*Brunda*, 1993).

Šis efekts tiek panākts ar paaugstinātu IFN- γ veidošanos (*Zou*, 1995) un T šūnu aktivāciju (*Kobayashi*, 2002). Ir noskaidrots, ka perioperatīva IL-12 izmantošana samazina metastāžu veidošanos pelēm. Šajā gadījumā tas tiek skaidrots ar IL-12 atkarīgu NK šūnu skaita pieaugumu (*Schwartz*, 2008). Ir klīniski pētījumi, kas apliecina, ka perioperatīva IL-2 izmantošana stimulē šūnu imunitāti un uzlabo dzīvildzi pacientiem ar kolorektālu un aizkuņģa dziedzera vēzi (*Brivio*, 1996; *Brivio*, 1999; *Caprotti*, 2008).

1.2.6. Reģionālās anestēzijas labvēlīgā ietekme uz imūno sistēmu

Anestēzijas metode ietekmē arī imūnsupresijas pakāpi. Spinālās anestēzijas izmantošana, piemēram, prostatas operācijas gadījumā, nodrošina labāku T šūnu proliferācijas saglabāšanu nekā vispārējā anestēzija (*Le Cras*, 1998). Ķirurģiskajiem pacientiem epidurālā anestēzija ar lokālās anestēzijas līdzekļiem samazina neiroendokrīnās sistēmas aktivēšanos un tādējādi nepieļauj imūnsupresiju operācijas laikā. Pacientēm, kurām veikta histerektomija un kuras saņēmušas gan vispārējo, gan epidurālo anestēziju, NK šūnu citotoksiskās aktivitātes samazinājums tika būtiskāk novērsts, salīdzinot ar pacientēm, kas saņēma tikai vispārējo anestēziju. Tas tiek skaidrots ar kortizola atbildes reakcijas nomākšanu (*Tønnesen*, 1988). Pacientiem, kuriem veikta gūžas protezēšana, kortizola līmenis operācijas laikā bijis zemāks reģionālās anestēzijas grupā, salīdzinot ar grupu, kam veikta vispārējā anestēzija (*Høgevoid*, 2000).

Šie rezultāti liecina, ka epidurālā anestēzija novērš ar ķirurģisko operāciju saistīto seruma kortizola līmeņa paaugstināšanos, jo tās izraisītais aferentās inervācijas nomākums var samazināt neiroendokrīno reakciju uz stresu operācijas laikā un pēcoperācijas periodā (*Kehlet*, 2000). Samazinātu limfocītu proliferāciju un limfokīnu veidošanos novēro pacientiem vispārējā anestēzijā, bet nenovēro pacientiem, kuriem izmantota epidurālā anestēzija (*Hole*, 1983). *In vivo* eksperimentā, izmantojot peļu modeli, ir atklāts, ka vispārējai anestēzijai ar sevoflurānu pie laparotomijas, papildus izmantojot spinālo bloku, tiek saglabāta aknu mononukleāro šūnu audzēja šūnu iznīcinošā funkcija, saglabāts Th1/Th2 balanss un saglabāta NK šūnu un T šūnu funkcija, tādējādi samazinot audzēja metastāžu veidošanos (*Wada*, 2007). Epidurālās vai spinālās anestēzijas ietekme uz operācijas un vispārējās anestēzijas izraisīto imūnsupresiju var aizsargāt pacientus no iespējamām infekciozām komplikācijām vai audzēja metastāzēm pēc operācijas (*Liu*, 1995).

1.3. Cilvēka 6. un 7. herpesvīruss (HHV-6 un HHV-7)

1.3.1. HHV-6 un HHV-7 atklāšanas vēsture un klasifikācija

Cilvēka 6. herpesvīruss (HHV-6) tika izolēts 1986. gadā no perifērisko asiņu mononukleārajām šūnām (PBMC), kas iegūtas no AIDS slimniekiem, kas inficēti ar HIV-1 (*Salahuddin*, 1986).

Sākotnēji šo vīrusu nosauca par cilvēka B-limfotropo vīrusu jeb HBLV, bet vēlāk nosaukumu mainīja, jo tika noskaidrots, ka tam ir daudzveidīgs šūnu tropisms. Tam ir

raksturīga dominējoša afinitāte pret CD4 pozitīviem T limfocītiem (Ablashi, 1988; Takahashi, 1989).

Cilvēka 7. herpesvīruss (HHV-7) tika izolēts 1990. gadā no veseliem cilvēkiem, kuru šūnas tika stimulētas ar antivielām pret CD3 un tad inkubētas ar interleikīnu-2 (Frenkel, 1990). Šis vīruss ir viens no *Exanthem subitum* izraisītājiem (Tanaka, 1994).

Saskaņā ar Starptautiskās vīrusu taksonomijas komitejas (ICTV) nomenklatūru herpesvīrusu apzīmējums sastāv no vīrusa saimnieka dzimtas vai apakšdzimtas un arābu cipariem (piem., HHV-6, HHV-7).

Atbilstoši nomenklatūrai ICTV cilvēka herpesvīrusus iedala trijās apakšdzimtās: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* un *Gammaherpesvirinae*.

Pie *Alphaherpesvirinae* apakšdzimtas pieder *Herpes simplex 1* (HSV-1), *Herpes simplex 2* (HSV-2) un *Varicella zoster* (VZV) vīrusi, pie *Betaherpesvirinae* apakšdzimtas pieder *Cytomegalovirus* (CMV), *Human herpesvirus-6* (HHV-6) un *Human herpesvirus* (HHV-7), bet pie *Gammaherpesvirinae* apakšdzimtas pieder Epsteina–Barra vīruss (EBV) jeb *Human herpesvirus-4* un *Human herpesvirus-8* (HHV-8). Tā kā HHV-6 un HHV-7 pieder pie *Roseolovirus* ģints, tos dēvē arī par roseolovīrusiem (Yamanishi, 1988).

1.3.2. HHV-6 un HHV-7 uzbūve un replikācija

HHV-6 ultrastruktūra ir līdzīga citiem herpesvīrusu dzimtas vīrusiem. Visu herpesvīrusu struktūru veido trīs galvenie uzbūves elementi:

- 1) nukleokapsīds ar ikosaedrisku simetriju un 90–100 nm diametru. Tas satur vīrusa divpavedienu DNS, kurai piemīt infekciozas īpašības;

- 2) apvalks, kurā ir vīrusa glikoproteīni. Apvalks ir veidots no modificētām kodola membrānām un sastāv no divām kārtām;

- 3) amorfs slānis, kas sastāv no proteīnu maisījuma un aizpilda telpu starp nukleokapsīdu un apvalku. Nobriedušā virionu diametrs ir aptuveni 200 nm (Biberfeld, 1987; Yoshida, 1989).

HHV-6 genoms ir lineāra, dubultspiralizēta 159-170 kbp gara DNS molekula. HHV-6A genoms ir nosekvenēts pilnībā, bet HHV-6B – tikai daļēji. Centrālajā daļā atrodas septiņi gēnu bloki (I-VII). Tos sauc par kodola gēniem, un tie ir raksturīgi visiem herpesvīrusiem. Otrs bloks ir atvērtie nolasīšanas rāmji (*ORFs*) no U2 līdz U14. Šie rāmji satur β-herpesvīrusiem raksturīgus gēnus.

Tālākie reģioni ietver *ORFs* U15–U25, kas satur tieši *Roseolovirus* ģintij specifiskus gēnus. Trīs gēni – U22, U83 un U94 – ir specifiski HHV-6 un nav sastopami HHV-7 genomā. Genoma līmenī HHV-6 vislielākā līdzība ir ar HHV-7, tad seko citomegalovīruss (CMV).

HHV-6 aminoskābju līdzība ar HHV-7 ir 46,6–84,9%, bet ar CMV – 41,0–75,8%. HHV-6 genoms sastāv no unikālām secībām (U) (85,0–90,0% no genoma) un tiešajiem atkārtojumiem (DR) (10,0–15,0% no genoma), kas satur šķelšanas un pakošanas secības *pac-1*, *pac-2* un atsevišķus replikācijas rajonus (*OriLyt*)-heksonukleotīdus (GGGTTA) (Thomson, 1994).

Gēniem, kas kodē strukturālos viriona komponentus vai enzīmus, ir nepieciešams nukleotīda metabolisms un DNS replikācija. Tie ir apkopoti septiņās gēnu grupās (Bolle, 2005) un attiecas uz visiem herpesvīrusiem. Vēl viena gēnu grupa, tā sauktā US22 gēnu dzimta, ir raksturīga tikai β -herpesvīrusiem. To funkcija nav pilnībā skaidra, taču dažiem tās pārstāvjiem ir transaktivējošs potenciāls (Stasiak, 1992). HHV-7 ģenētiskā līmenī ir ļoti līdzīgs HHV-6 vīrusam, tad seko CMV.

HHV-7 genoms ir aptuveni par 10% īsāks nekā HHV-6. HHV-7 lineārais, DNS dubultās spirāles genoms ir pilnībā nosekvenēts (Nicholas, 1996). Kopumā HHV-7 genoms ir kolineārs HHV-6 un sastāv no gariem unikāliem reģioniem, aptuveni 133kb, kas abās pusēs ir saistīti ar tiešajiem atkārtojuma elementiem (DR, aptuveni 6kb katrs).

Beta-herpesvīrusu replicēšanās cikls ir līdzīgs, taču atšķirīgi ir mērķa receptori. HHV-6 mērķa receptors ir CD46, kas atrodas uz visām kodolu saturošo šūnu membrānām, savukārt HHV-7 mērķa receptors ir CD4 (Lusso, 1994).

Lai sāktos vīrusa replikācija, HHV-6 glikoproteīni gH, gL, GQ un GB piesaistās pie saimnieka šūnu virsmas receptora CD46. Visas kodolu saturošās šūnas cilvēka organismā satur CD46, līdz ar to HHV-6 saimnieka šūnu diapazons ir plašs. HHV-6 nukleokapsīds tiek transportēts uz uzņemošās šūnas kodolu, izmantojot mobilo mikrotubuļu tīklu. Vīrusa DNS pēc tam nokļūst kodolā (Bolle, 2005). Lai tas notiktu, HHV-6A ir glikoproteīni H, L un Q, kurus kodē HHV-6 gēni U48, U82 un U100. Šie glikoproteīni veido GH-gL-GQ kompleksu, kas kalpo kā vīrusu ligands ar cilvēka CD46 receptoru. gH ir faktors, kas atbild par vīrusa piesaistīšanos pie CD46 domēniem SCR2 un SCR3 (Santoro, 2003). HHV-6 gB, kuru kodē U39, ir iesaistīts saplūšanas procesā (Takeda, 1996).

Pēc piesaistīšanās pie receptora un gH-gL-gQ veicinātas vīrusa apvalka saplūšanas ar šūnas membrānu ienākušo nukleokapsīdu transportē caur citoplazmu (visbiežāk saistoties ar mikrotubuļu tīklu) uz šūnas kodola poru kompleksiem, kur vīrusa DNS genoms tiek atbrīvots nukleoplazmā. Pēc tam tas izmanto šūnas transkripcijas un translācijas mehānismu, lai producētu vīrusa proteīnu trīs kinētiskās klases (nekavējoši agros (IE), agros (E) un vēlos (L)

proteīnus). HHV-6 IE proteīni tiek sintezēti dažas stundas pēc infekcijas, un tie regulē citu gēnu ekspresiju. E gēnu ekspresija ir atkarīga no IE proteīnu sintēzes un to proteīnu produkcijas, kas galvenokārt ir iesaistīti DNS metabolismā un replikācijā. L proteīni bieži vien ir glikozilēti un kalpo par vīrusa daļiņu nobriešanas komponentu, arī hemokīnu kodējošais U83 gēns tiek ekspresēts vēlīnākajā fāzē (Zou, 1999).

Lai notiktu herpesvīrusu DNS replikācija, ir nepieciešami septiņi vīrusu kodējošie faktori, pirmkārt, vietas (ori) piesaistes proteīns (ko kodē HHV-6 U73 gēns), kas nav CMV, un *Gammaherpesvirinae* piesaistās pie lītiskās replikācijas (*ori-lyt*) vietas un denaturē daļu cirkulārā vīrusa DNS genoma (Dewhurst, 1993; Inoue, 1995).

Vienpavediena DNS “replikācijas burbulī” (*replication bubble*) stabilizē galvenais DNS piesaistes proteīns, ko kodē U41, kamēr otras ķēdes sintēzi katalizē DNS polimerāze (pU38) (Teo, 1991).

Jaunizveidotās savienotās DNS ķēdes tiek iekapsulētas, mijiedarbojoties segmentācijas un iepakojšanas proteīniem ar specifiskiem iepakojšanas (pac) signāliem vīrusa genoma galos (Deng, 1998). Nobriedušie kapsīdi pumpurojas ārā no kodola un nokļūst citoplazmā. Pēc tam Goldži kompleksā vai gredzenveida lamellā, vietās, kur uzkrājas vīrusa glikoproteīni, tie iegūst tegumentu un otru vīrusa apvalku (Cardinali, 1998). Tālāk tie tiek secīgi glikozilēti transporta vezikulās un lītiski atbrīvoti ārpusšūnu telpā kā jau nobriedušas vīrusu daļiņas. HHV-6 nobriešanas process no citu herpesvīrusu nobriešanas procesa atšķiras ar to, ka inficēto šūnu membrānā nevar atrast vīrusa glikoproteīnus (Torrisi, 1999). Kopējais laiks no inficēšanās līdz jauna viriona izveidei (t. i., viens replikācijas cikls) ir aptuveni 72 stundas (Black, 1989).

1.3.3. HHV-6 šūnu tropisms, veidi, transmisija un epidemioloģija

HHV-6 galvenās mērķa šūnas ir CD4⁺ limfocīti. Taču arī NK šūnas, CD8⁺ T limfocīti, makrofāgi, epitēlija šūnas, endotēlija šūnas, neironu šūnas un fibroblasti var būt inficēti (Bolle, 2005).

HHV-6 izmanto cilvēka CD46 kā šūnu receptoru, jo gan akūta infekcija, gan šūnu saplūšana saistībā ar HHV-6 tiek nomākta ar monoklonālām antivielām pret CD46 (Santoro, 1999).

Sākumā HHV-6 tika sadalīts divās grupās, izdalot variantu A (HHV-6A) un variantu B (HHV-6B) (Schirmer, 1991). Abi varianti ir cieši saistīti, taču būtiski atšķiras to bioloģiskās, imunoloģiskās, epidemioloģiskās un molekulārās īpašības. HHV-6B ir galvenais *Exanthem*

subitum izraisītājs (*Yamanishi*, 1988), bet nav skaidri zināms, vai slimība nav saistīta arī ar HHV-6A. Vēlāk, 2011. gadā, *ICTV* abus variantus nolēma atzīt par divām dažādām sugām.

HHV-6A genoms ir 159321 bp liels, tā pamatsastāvs ir 43% G + C, un tas satur 119 atvērtos lasīšanas rāmjus. Vispārējā struktūra ir 143 kb, ko ierobežo 8 kb tiešie atkārtojumi, DRL (pa kreisi) un DRR (pa labi), saturot 0,35 kb no galējiem un vienojošiem blokiem (*Gompels*, 1995).

HHV-6B (Z29) genoms ir 162114 bp garš, un tas sastāv no 144528-bp vienreizēja segmenta (U), ietverot 8793-bp tiešos atkārtojumus (DR).

Genomu secība ļauj paredzēt kopumā 119 unikālus atvērtos lasīšanas rāmjus (*ORFS*), no kuriem 9 ir tikai HHV-6B. Kopējā nukleotīdu sekvences līdzība HHV-6A un HHV-6B ir 90%. Visvairāk atšķiras DR rajoni un labās puses gals nepārtrauktajam rajonam, kas aptver fragmentu no U86 līdz U100. Šajos rajonos identiskas ir 85% un 72% nukleotīdu sekvences (*Dominguez*, 1999).

HHV-6A un HHV-6B replikācija *in vitro* visefektīvāk notiek perifēro asiņu mononukleāro šūnu (PAMŠ) vai nabassaites asiņu limfocītos (CBL).

HHV-6A un HHV-6B izplatība dažādos audos *in vivo* atšķiras. Pacienti ar duālu infekciju cerebrospinālajā šķidrumā (CSŠ) atrod tikai HHV-6A, kas liecina, ka HHV-6A ir lielāks neotropisms (*Hall*, 2010).

Lai inficētu T limfocītus *in vitro*, HHV-6A un HHV-6B izmanto dažādus šūnu receptorus. HHV-6A izmanto CD46, bet HHV-6B – CD134 receptoru (*Tang*, 2013).

Par galveno inficēšanās ceļu tiek uzskatīta vīrusa pārnešana ar ķermeņa šķidrumiem. Bieži HHV-6 konstatē siekalās un siekalu dziedzeru audos (*Di Luca*, 1995; *Zhao*, 1997; *Tanaka*, 2012). Tas liecina, ka siekalu dziedzeri ir viena no HHV-6 persistences vietām un ka siekalas ir veids, kā vīruss tālāk izplatās no mātes uz bērnu vai vēlāk starp bērniem (*Chen*, 2006). Ir svarīgi atzīmēt, ka visi HHV-6 izolāti no siekalām ir HHV-6B (*Hall*, 2010). HHV-6 DNS konstatācija aborta audos un nabassaites asinīs veseliem jaundzimušajiem, kā arī IgM trūkums norāda uz iespējamu iedzimtu transmisiju (*Adams*, 1998, *Aubin*, 1992). HHV-6 vertikālās transmisijas biežums ir aptuveni 1–2%. Viena gadījuma ziņojums norāda uz vairākām neiroloģiskām komplikācijām pēc intrauterīnas HHV-6 infekcijas (*Lanari*, 2003). Kaut gan HHV-6B DNS dzemdes kaklā ir konstatēta 20% grūtnieču, perinatālā transmisija nav raksturīga (*Maeda*, 1997). Fekāli-orālā HHV-6 izplatība, kas ir ļoti izplatīta bērnu vidū, nav dokumentēta. Ir pierādīts, ka HHV-6 var integrēties šūnas genomā. Hromasomā integrētu HHV-6 pirmo reizi minēja *Luppi* ar līdzautoriem (*Luppi*, 1993).

HHV-6 genoma secības klātbūtni matu folikulu šūnās cilvēkiem ar imūnās atbildes traucējumiem pirmo reizi pierādīja *Ward* ar līdzautoriem (*Ward*, 2006). Tas liecina, ka vīrusu

iespējams pārmantot un ka to var atrast daudzās organisma šūnās (Daibata, 1998; Daibata, 1999; Tanaka-Taya, 2004).

Seroloģiskie izmeklējumi ir parādījuši, ka gandrīz visiem laikā dzimušiem bērniem pēc piedzimšanas ir pasīvi iegūtas mātes antivielas pret HHV-6 un HHV-7. Antivielas pret HHV-6 pieaugušo populācijā ir konstatētas 88–90% gadījumu (Ward, 2005).

Lai gan ar seroloģisko pārbaudi nevar atšķirt HHV-6A un HHV-6B, tiek uzskatīts, ka HHV-6B ir vairāk seroprevalents, pārstāvot lielāko daļu klīniski novēroto infekciju. HHV-6A seropozitivitāti parasti novēro imūnsistēmas nomākuma gadījumos vai pieaugušiem pacientiem, kuri uzrāda *Exanthema subitum* klīniskās pazīmes (Bolle, 2005; Dockrell, 2003; Wang, 1999).

FEBSTAT (*Febrile Seizures in Childhood*) pētījumā HHV-6B virēmija tika konstatēta trešdaļai zīdaiņu ar febrilo epileptisko statusu (Epstein, 2012).

HHV-6A biežāk konstatēts pacientiem ar nervu sistēmas iekaisuma slimībām – multiplo sklerozi un rombencefalītu (Alvarez-Lafuente, 2002; Crawford, 2007).

1.3.4. HHV-7 šūnu tropisms, transmisija un epidemioloģija

HHV-7 primārais mērķis ir cilvēka T šūna, taču *in vitro* tam ir ievērojami šaurāks saimnieka šūnu spektrs nekā HHV-6. HHV-7 infekcija attīstās tikai primāri kultivētās CD4+ T šūnu un SupT1 šūnu līnijās, turpretī HHV-6 inficē plašu kultivēto šūnu un šūnu līniju spektru. Daudzas CD4+ šūnas vai šūnu līnijas neizdodas produktīvi inficēt ar HHV-7, ieskaitot no monocītiem atvasinātos makrofāgus un plaši pielietotās CD4+ T šūnu līnijas, piemēram, Jurkat un H9 (Lusso, 1994). HHV-7 produktīvi inficē CD4+ T šūnas, izraisot citopātisku efektu (CPE), kas ir līdzīgs HIV-1 un HHV-6 izraisītam CPE. Tomēr HHV-7 atšķiras no HHV-6 ar tā ietekmi uz imūnregulējošo T-šūnu virsmas proteīnu ekspresiju (Lusso, 1994).

HHV-7 neietekmē CD3 šūnu ekspresiju, bet izraisa dramatisku CD4 ekspresijas samazinājumu 6–9 dienu laikā pēc inficēšanās. Šī CD4 modulācija var notikt caur vairākiem paralēliem ceļiem, līdzīgi kā tas notiek HIV-1 inficētās šūnās, kavējot šūnas virsmas CD4 ekspresiju. Ir pierādīts, ka HHV-7 infekcijas ietekmē samazinās kopējais CD4 olbaltumvielu un mRNS daudzums SupT1 šūnās un ka šī infekcija ietekmē arī CD4 ekspresiju primārās T šūnās (Lusso, 1994; Takemoto, 2007).

Attiecībā uz HHV-7 transmisiju pieejami pretrunīgi dati. Hall un līdzautori savā pētījumā ir konstatējuši, ka iedzimta HHV-6, kā arī iedzimta CMV infekcija sastopama 1% no visiem jaundzimušajiem, bet iedzimtu HHV-7 infekciju nenovēro nevienā no gadījumiem.

Tas liek domāt par transmisijas un patogēnēzes atšķirībām starp līdzīgiem beta-herpesvīrusiem (Hall, 2004). HHV-7 DNS ir atrodama veselu indivīdu siekalu un siekalu dziedzeru epitēlijā (Chen, 2006). Chen un Hudnall, izmantojot imūnhistoķīmijas metodi, ir konstatējuši HHV-7 antigēnus veselu indivīdu limfmezglos, mandelēs, nierēs un aknās. HHV-7 ir atklāts rīkles audos, asinsrades audos (kaulu smadzenēs, asinīs un liesā), kuņģa un zarnu trakta (kuņģa, tievo zarnu) audos un makstī. Iepriekš minētajā pētījumā norādīts, ka, tāpat kā HHV-6 gadījumā, rezultāti liecina par iespējamu seksuālu un perinatālu HHV-7 infekcijas transmisiju (Chen, 2006).

Izmantojot praimeru pāri pret HHV-7 U90 ORF, ir parādīta HHV-7 genoma integrācija perifēro asiņu un matu folikulu šūnās, turklāt vienā gadījumā integrācija ir pierādīta gan pacientam, gan pacienta mātei. Hromosomālā integrācija šajā pētījumā apstiprināta ar fluorescences *in situ* hibridizācijas analīzi (Prusty, 2017).

Vairāk nekā 95% pieaugušo ir inficēti un imūni pret HHV-7. No tiem vairāk nekā trīs ceturtdaļas tiek inficēti līdz sešu gadu vecumam. Primārā inficēšanās ar HHV-7 bērnu vidū parasti notiek vecumā no 2 līdz 5 gadiem, proti, vēlāk nekā primārā inficēšanās ar HHV-6 (Epstein, 2012; Yoshikawa, 2003). Antivielu izplatība pieaug līdz ar vecumu. 60% pusaudžu tiek konstatēti antivielu titri pret HHV-7 (Ward, 2005).

1.3.5. HHV-6 un HHV-7 infekciju veidi

Primārā inficēšanās ar HHV-6 notiek galvenokārt 6–15 mēnešus pēc dzimšanas (Enders, 1990; Meyding-Lamadé, 2012). Inkubācijas periods ir 1–2 nedēļas.

Biežākais simptoms bērniem ar primāru HHV-6 infekciju ir drudzis. To gandrīz vienmēr izraisa HHV-6B, nevis HHV-6A (Dewhurst, 1993; Hall, 1994; Schirmeret, 1991). Salīdzinot ar citām līdz divu gadu vecu bērnu slimībām, kurām vadošais simptoms ir drudzis, primāras HHV-6 infekcijas gadījumā drudzis ir ievērojami augstāks – ar vidējo temperatūru 39,6 °C, salīdzinot ar 38,9 °C citos gadījumos. Lielākajai daļai bērnu, pārsniedzot 39 °C, pirmās trīs dienas drudzis saglabājas augsts, 15% bērnu drudzis saglabājas sešas un vairāk dienas (Hall, 1994; Tesini, 2014).

Slimības sākuma drudža fāzē izsitumi tiek novēroti tikai 6%, temperatūras krišanās fāzē – 17% bērnu. Citā pētījumā izsitumi ir konstatēti 20% gadījumu (Zerr, 2005) No tā var secināt, ka izsitumi primāras HHV-6 infekcijas gadījumā ir mazāk nekā ceturtdaļai bērnu.

Jaundzimušajiem tiek diagnosticēta eritēma (*Exanthema subitum*, *Roseola infantum*). Asociācija starp *Exanthema subitum* un primāro HHV-6B infekciju tika atklāta 1988. gadā (Yamanishi, 1988). Kopš tā laika HHV-6B tiek uzskatīta par *Exanthema subitum* etioloģisko

faktoru maziem bērniem (*Dewhurst*, 1993). Lai gan HHV-6 infekcijai ir raksturīga augsta temperatūra, parasti tas ir mierīgs un pašierobežojošs process, tomēr literatūrā ir aprakstīti gadījumi ar smagu primāras HHV-6 infekcijas klīnisku norisi un plašu potenciālo komplikāciju spektru, ieskaitot miokardītu, rabdomiolīzi, trombocitopēniju, Gijēna-Barē (*Guillain-Barre*) sindromu, hepatītu un strauji progresējošu aknu mazspēju (*Fujino*, 2012; *Tesini*, 2014).

Salīdzinot ar HHV-6B, primāra inficēšanās ar HHV-7 tiek novērota vecākiem bērniem. No 250 bērniem, kuri griezušies pēc neatliekamās palīdzības sakarā ar drudzi, 8 gadījumos ir diagnosticēta primāra HHV-7 infekcija. Vidējais šo bērnu vecums bija 26 mēneši, un tikai viens bērns bija jaunāks par 13 mēnešiem. Klīniskā gaita bija identiska kā primāras HHV-6B infekcijas gadījumā (*Caserta*, 1998). Primārās HHV-7 infekcijas gadījumā klīniskā gaita var atšķirties plašā diapazonā – no klīniski nemanāmas gaitas līdz *Exanthema subitum* un smagām neiroloģiskām komplikācijām, ieskaitot encefalītu un *Guillain-Barre* sindroms (*Asano*, 1995; *Schwartz*, 2014; *Tanaka*, 1994; *Van den Berg*, 1999). Primārā HHV-7 infekcija var būt saistīta ar HHV-6 reaktivāciju (*Asano*, 1995; *Hidaka*, 1994.). HHV-7 un HHV-6 reizēm var inficēt vienu un to pašu šūnu (*Kempf*, 1997).

Persistējošas infekcijas gadījumā organisms ar adaptīvās imūnās sistēmas palīdzību nav panācis atbrīvošanos no vīrusa mērķa šūnas. Persistējošai infekcijai var būt latentā un aktīvā fāze, kas var noritēt bez inficēto šūnu bojāejas un pat bez pārmērīga kaitējuma inficētajai šūnai. Pēc primārās infekcijas gan HHV-6, gan HHV-7 persistentā formā cilvēka organismā var saglabāties visa mūža garumā. Vīrusu reaktivācija var notikt gadījumos, kad tiek nomākta imunitāte, piemēram, izmantojot imūnsupresijas līdzekļus un ciešot no stresa (*Sampaio*, 2011).

Aktīvā vīrusu infekcija var būt gan akūta infekcija, gan persistentas infekcijas reaktivācijas rezultāts. Akūta HHV-6B infekcija vai reaktivācija var izraisīt smagu encefalītu gan veseliem cilvēkiem, gan cilvēkiem ar novājinātu imunitāti. HHV-6B primārā infekcija bērnam ir krampju un epileptiskā stāvokļa cēlonis. Tiek uzskatīts, ka persistenta HV-6 infekcija var ierosināt multiplo sklerozi (HHV-6A), noturīgu deniņu daivas epilepsiju (HHV-6B), kognitīvo disfunkciju transplantācijas pacientiem (HHV-6B) un hroniskā noguruma sindromu (HHV-6A) (*Caserta*, 2001; *Chapenko*, 2006; *Maeki*, 2012; *Nora-Krukke*, 2011).

HHV-6 un HHV-7 infekcijas reaktivācija, iespējams, ir iesaistīta multiplās sklerozes paasinājumu attīstībā, aktivējot Th1 limfocītu subpopulāciju (*Nora-Krukke*, 2011).

Ir konstatēta HHV-6A infekcijas saistība ar Hašimoto tireoidītu, kas ir vairogdziedzera autoimūna saslimšana (*Caselli*, 2012). 2017. gada pētījumā ir pierādīta aktīvas HHV-6 infekcijas saistība ar autoimūno tireoidītu (*Sultanova*, 2017).

Pacientiem, kuriem bija diagnosticēta nespecifiska encefalopātija, HHV-6 un HHV-7 infekcija ir konstatēta biežāk nekā kontroles grupās. Tas ļauj secināt, ka šiem vīrusiem ir noteikta loma šīs patoloģijas patoģenēzē (*Chapenko, 2016; Skuja, 2017*).

Pētot HHV-6 un HHV-7 infekcijas lomu gastrointestinālā vēža attīstībā, tika konstatēts, ka HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivācija var izraisīt kopējo limfocītu skaita samazinājumu un sekojošu imūnsupresijas attīstību (*Sultanova, 2013*).

HHV-6 un HHV-7 infekcijai ir kompleksa loma komplikāciju attīstībā pēc autologo perifēro asiņu cilmes šūnu transplantācijas. Abi vīrusi tiek saistīti ar komplikāciju attīstību, izmantojot savu imūnmodulējošu darbību. To aktivizēšanās kinētika liecina par potenciālo HHV-7 infekcijas kā kofaktora lomu HHV-6 reaktivācijā, savukārt HHV-6 un HHV-7 kā kofaktori veicina CMV reaktivāciju (*Chapenko, 2012*).

Pētot saistību starp mialģiskā mielīta / hroniska noguruma sindroma (*myalgic encephalomyelitis / chronic fatigue syndrome*) klīnisko simptomu rašanos un HHV-6, HHV-7 un B19 infekcijas reaktivāciju un paaugstinātiem ar TNF-alfa un IL-6 ekspresijas līmeņiem, tika secināts, ka šie imūnmodulējošie patogēni ir iesaistīti mialģiskā mielīta / hroniska noguruma sindroma etiopatoģenēzē (*Chapenko, 2012*).

1.3.6. Imūnmodulācija

HHV-6 ietekmē gandrīz visas imūnās sistēmas funkcijas komponentes, ieskaitot iedzimtās un adaptīvās imūnās funkcijas.

Ietekme uz NK šūnām. HHV-6 inficē un nogalina NK šūnu klonus *in vitro*. Turklāt HHV-6 ierosina CD4 receptoru ekspresiju NK šūnās, kas ir T helperu šūnu virsmas marķieris un galvenais HIV-1 receptors. Tas norāda, ka HHV-6 var ne tikai izraisīt imūnsistēmas nomākumu, bet arī veicināt AIDS progresēšanu (*Emery, 1999; Kumagai, 2006*). Tomēr HHV-6 infekcijas rezultātā perifērajās mononukleārajās šūnās tiek aktivētas NK šūnas, kas noved pie ar vīrusu inficēto šūnu nogalināšanas (*Flamand, 1996; Kumagai, 2006*).

Ietekme uz dendrītiskajām šūnām. Dendrītiskās šūnas ir nozīmīgas antigēnus prezentējošās šūnas CD4 un CD8 T limfocītiem. Nenobriedušas dendrītiskās šūnas atbalsta HHV-6A vai HHV-6B replikāciju (*Hirata, 2001; Kakimoto, 2002; Nordström, 2012*). Lielākā daļa inficēto šūnu netiek nogalinātas un sasniedz nobriedušas formas. Tomēr šīs šūnas ir funkcionāli nepilnīgas un nespēj tālāk atbalstīt limfocītu proliferāciju (*Kakimoto, 2002*).

Ietekme uz histiocītiem. Langerhansa šūnu histiocitozei un hemofagocitārajai histiocitozei ir raksturīga traucēta histiocītu (audu makrofāgu) proliferācija un migrācija. Ir

aprakstīta hemofagocitārās histiocitozes gadījumu saistība ar HHV-6 aktivitāti pēc orgānu transplantācijas (Rossi, 2001; Jeziorski, 2008).

Ietekme uz T limfocītiem. Ne HHV-6A, ne HHV-6B membrānas glikoproteīni neizraisa T-limfocītu proliferāciju veseliem pieaugušajiem. Turpretī šie antigēni nomāc T-limfocītu proliferatīvo atbildi uz mitogēniem un antigēniem (Horvat, 1993). Savukārt HHV-6A un HHV-6B nukleokapsīdu olbaltumvielu un apvalka proteīni izraisa T-limfocītu proliferāciju veseliem, seropozitīviem bērniem un pieaugušajiem (Soldán, 2000).

Inficējoties ar HHV-6 un HHV-7, inficētie T limfocīti pārveidojas par baloniem līdzīgām šūnām. Šīs šūnas parasti ir ar vienu vai vairākiem kodoliem (Secchiero, 1997). HHV-6A, izmantojot CD46 receptoru, var izraisīt šūnu saplūšanu, nenotiekot vīrusa proteīnu sintēzei (Mori, 2002; Santoro, 1999).

HHV-6B infekcija izslēdz saimnieka šūnu DNS sintēzi, bet stimulē proteīnu sintēzi, kas, iespējams, ietekmē šūnu ciklu un rada pienācīgu intracelulāro vidi vīrusu replikācijai un nomāc T limfocītu proliferāciju (Black, 1992). HHV-6A līdzvērtīgi replicējas un nogalina CD4⁺ un CD8⁺ receptorus saturošas T šūnas, turpretī HHV-6B galvenokārt replicējas un nogalina CD4⁺ T šūnas (Grivel, 2003).

HHV-6A un HHV-6B infekcija izraisa vispārēju CD46 receptora lejupmodulāciju gan inficētajās, gan neinficētajās šūnās. Savukārt CD3 lejupmodulācija notiek tikai inficētajos limfocītos. Lejupmodulācijas intensitāte atšķiras atkarībā no tā, vai T limfocīti ir inficēti ar HHV-6A vai HHV-6B (Furukawa, 1994; Grivel, 2003).

Savukārt HHV-6A un HHV-6B infekcijas rezultātā CD4 tiek augšupregulēts, (Flamand, 1998; Grivel, 2003). HHV-6A uzrāda spēcīgāku ietekmi uz CD3 un CD4⁺ limfocītiem salīdzinājumā ar HHV-6B, bet abiem vīrusiem ir līdzīga ietekme uz *in vitro* kultivētiem limfocīdajiem audiem (Furukawa, 1994; Grivel, 2003).

HHV-7 kā šūnu receptoru izmanto CD4, un CD4 ekspresija HHV-7 infekcijas rezultātā tiek samazināta (Furukawa, 1994).

Atbildot uz anti-CD3 antivielām, ar HHV-6 vai HHV-7 inficētie limfocīti zaudē spēju proliferēties un nogalināt ar vīrusiem inficētās šūnas (Furukawa, 1994; Smith, 2005).

Ietekme uz citokīniem. Lai organisma imūnā atbilde funkcionētu optimāli, būtiski ir nodrošināt balansu starp Th1 un Th2. IL-12 ir galvenā loma Th1 atbildes ierosināšanā. Savukārt IL-10 ir viena no svarīgākajām lomām, lai balansu novirzītu uz Th2.

Perifēro asiņu mononukleārajās šūnās HHV-6 infekcija ierosina IL-10 sintēzi, kas inhibē IL-12 veidošanos (Arena, 1999; Li, 1997).

HHV-6A un HHV-6B infekcija monocītos īslaicīgi izraisa IL-12 veidošanās nomākumu. Vienlaicīgi HHV-6A un HHV-6B infekcija būtiski ierobežo IL-12 sintēzi,

reagējot uz IFN-gamma un lipopolisaharīdiem. Summārais rezultāts ir IL-12 sintēzes samazinājums (Li, 1997; Smith, 2003).

Šie rezultāti ļauj secināt, ka HHV-6 infekcija var nomākt Th1 polarizētās imūnās atbildes reakciju. Tas aptipinās eksperimentos ar HHV-6B inficētās T šūnu leikēmijas šūnu līnijās. Tiek izjaukts Th1/Th2 balanss par labu Th2 (Takaku, 2005).

HHV-6A virionu mijiedarbība ar CD4⁺ T limfocītiem nomāc IL-2 mRNS sintēzi un IL-2 sintēzi (Flamand, 1995).

IL-2 ir būtiska loma T-limfocītu un NK šūnu funkciju regulācijā.

HHV-6A, HHV-6B un HHV-7 katrs lejupregulē CXCR4 hemokīnu receptoru, kā rezultātā tas kļūst nejūtīgs pret CXCR4 specifisku ligandu – no stromas šūnām atvasinātu faktoru-1 (Hasegawa, 2001; Yasukawa, 1999).

Šūnu apoptoze. HHV-6 un HHV-7 infekcijas var izraisīt šūnu bojāeju nekrotiskās līzes rezultātā (Inoue, 1997; Secchiero, 1997; Yasukawa, 1998). Turklāt CD4⁺ T-limfocītu bojāeja ir vīrusu izraisītas šūnu apoptozes rezultāts. HHV-7 infekcijas gadījumā tā ir atkarīga no vīrusu replikācijas, savukārt HHV-6 infekcijas gadījumā apoptoze nav atkarīga no vīrusu replikācijas (Inoue, 1997; Secchiero, 1997).

1.3.7. HHV-6 un HHV-7 infekcijas klīniskās izpausmes

Veicot kaulu smadzeņu transplantāciju, 50% gadījumu konstatē HHV-6 infekciju, bet, veicot orgānu transplantāciju, to konstatē 20–30% gadījumu. Tā parasti attīstās 2–3 nedēļas pēc veiktās procedūras. Klīniskās izpausmes parasti ir drudzis, izsitumi uz ādas, pneimonija, kaulu smadzeņu darbības nomākums, encefalīts un orgānu atgrūšana. HHV-6 infekcijas reaktivācija ir saistīta ar akūtu “transplantāts pret saimnieku” reakciju (GVHD) un transplantāta atgrūšanu. Pētījumā, kurā analizēti 235 pacienti pēc allogēnisku cilmes šūnu transplantācijas, konstatēts, ka HHV-6 reaktivācija pēc transplantācijas ir cieši saistīta ar mirstību pēc transplantācijas un akūtas “transplantāts pret saimnieku” reakcijas attīstību (Dulery, 2012).

Pēc asins cilmes šūnu transplantācijas HHV-6B konstatē biežāk nekā HHV-6A. Pētījumu par HHV-7 infekciju pēc kaulu smadzeņu transplantācijas nav daudz, salīdzinot ar pētījumiem par HHV-6. Saskaņā ar vairāku nesenu pētījumu datiem HHV-7 var darboties kā kofaktors citomegalovīrusa slimībai pēc orgānu transplantācijas (Yoshikawa, 2003). HHV-7 aktivitāti perifēro asiņu mononukleārās šūnās (PBMC) konstatē retāk, iespējams, arī pateicoties zemam CD4⁺ šūnu skaitam pēc transplantācijas (Boutolleau, 2003).

Herpesvīrusu aktivitāte ir saistīta ar reaktivāciju vai atkārtotu inficēšanos. Primāra inficēšanās pieaugušo vecumā sastopama reti.

Pacientiem pēc nieru transplantācijas HHV-6 infekcija ir saistīta ar hroniskas allotransplantāta nefropātijas attīstību (*Chapenko, 2009*). HHV-6 infekcijas reaktivācijas sekas pacientiem pēc aknu transplantācijas ir kaulu smadzeņu nomākums, centrālās nervu sistēmas disfunkcija, pneimonijs, hepatīts, “transplantāts pret saimnieku” reakcija, sēnīšu infekcija un bieži – allotransplantāta atgrūšana (*Abdel Massih, 2009*). Nesena publikācija norāda nevis uz augstu intrahepatisku CMV vai EBV slodzi, bet tieši uz augstu HHV-6 slodzi, un tā ir saistīta ar transplantāta hepatītu un samazinātu transplantāta izdzīvošanu (*Pischke, 2012*). HHV-6 var būt akūta fulminanta hepatīta, aknu mazspējas progresēšanas cēlonis bērniem ar hronisku hepatītu (*Chevret, 2008*), kā arī akūtas aknu mazspējas cēlonis pieaugušajiem (*Cacheux, 2005*). HHV-6 aknu infekcija veiksmīgi tiek ārstēta ar ganciklovīra pretvīrusu terapiju (*Cacheux, 2005*).

Ir apsvērta HHV-6 infekcijas loma vairāku autoimūnu slimību – autoimūnas hemolītiskas anēmijas / neitropēnijas (*Yagasaki, 2011*), autoimūna akūta hepatīta (*Grima, 2008*) un multiplās sklerozes (*Tejada-Simon, 2003; Nora-Krukke, 2011*) – gadījumā. 2012. gada pētījumā konstatēta HHV-6A infekcijas saistība ar Hašimoto tireoidītu, kas ir vairogdziedzera autoimūna saslimšana (*Caselli, 2012; Sultanova, 2017*).

1.3.8. HHV-6 un HHV-7 infekcija un ārstēšana

Lai diferencētu latentu infekciju no aktīvas, ir jāveic PQR tests, kā matricu lietojot gan DNS, kas izdalīta no cirkulējošiem perifēro asiņu leukocītiem, gan no šūnām brīvas asins plazmas. Aktīvas herpesvīrusu infekcijas gadījumā, kad notiek vīrusa replikācija, liels skaits virionu nonāk plazmā, un tos ir iespējams noteikt ar PQR DNS testu. Ņemot vērā, ka PQR tests ir ļoti jutīgs, ir jāizslēdz pozitīvas reakcijas esamība inficēto šūnu detrita dēļ, kā arī jāveic visas nepieciešamās papildu kontroles, lai izslēgtu viltus pozitīvas un negatīvas reakcijas.

Vīrusu reaktivācija var izraisīt dzīvībai bīstamas komplikācijas pacientiem ar traucētu imūno atbildi. Tā kā vakcīna pret HHV-6 nav pieejama, ir nepieciešama droša un efektīva ārstēšana. Nav arī klīniski apstiprinātu medikamentu HHV-6 infekcijas ārstēšanai. Tāpēc tās ārstēšanai izmanto tos pašus medikamentus, ko CMV infekcijas ārstēšanai – nukleozīdu analogus ganciklovīru un valganciklovīru, mazāk – aciklovīru, valaciclovīru, cidofovīru un foscarnetu.

2. MATERIĀLS UN METODES

Pētījums izstrādāts Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas stacionāra “Gaiļezers” plastiskās un mikroķirurģijas centrā, Rīgas Stradiņa universitātes Anestezioloģijas un reanimatoloģijas katedrā un Rīgas Stradiņa universitātes Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūtā.

2.1. Pētījuma dizains un iekļaušanas kritēriji

Prospektīvā pētījumā tika iekļauti 89 pacienti. Pētāmo pacientu izlasi veidoja pētījuma grupa, kurā tika iekļauti 58 pacienti, un kontroles grupa, kurā tika iekļauti 31 pacients. Visiem pētījuma grupas pacientiem tika veiktas ilgstošas, liela apjoma mikrovaskulāras brīvā lēvera operācijas, kuru mērķis bija likvidēt plašus audu defektus. Kontroles grupas pacientiem tika veiktas īsas, līdz vienai stundai ilgas, neliela apjoma, virspusējas plastiskās ķirurģijas operācijas. Atkarībā no izmantotās anestēzijas metodes gan pētījuma, gan kontroles grupas pacienti tika iedalīti divās apakšgrupās: pacienti, kuriem pielietota vispārējā anestēzija, un pacienti, kuriem pielietota reģionālā anestēzija. Pētījuma grupā vispārējo anestēziju saņēma 35 pacienti, reģionālo – 23 pacienti. Kontroles grupā vispārējo anestēziju saņēma 16 pacienti, bet reģionālo – 15 pacienti. Pētījumā iekļauto pacientu iedalījuma shēmu sk. 2.1. attēlā.

2.1. attēls. Pētījumā iekļauto pacientu iedalījuma shēma

Iekļaušanas kritēriji pacientu dalībai pētījumā bija:

- 1) iekļaujamā persona sasniegusi vismaz 18 gadu vecumu (izņemot vienu zēnu, kuram uz iekļaušanas brīdi bija 5 gadi);
- 2) pacientam audu defekts ir slēgts ar mikrovaskulāro lēveri (pētījuma grupa);
- 3) pacientam veikta īslaicīga (līdz 1 stundai) plastiskās ķirurģijas operācija (kontroles grupa);
- 4) paciente nav grūtniece;
- 5) paciente nav sieviete laktācijas periodā;
- 6) pacientam nav zināmas imūnsistēmas patoloģijas;
- 7) pacientam nav autoimūnu saslimšanu;
- 8) pacients nesaņem imūnsupresīvo terapiju;
- 9) pacients ir kardiopulmonāli vesels;
- 10) pacientam nav psihisku saslimšanu;
- 11) ja pacientam bijusi onkoloģiska slimība – pirms vairāk nekā 5 gadiem tā radikāli izārstēta, nav novērots recidīvs vai metastāzes, viņš nesaņem adjuvantu terapiju;
- 12) pacients nav inficēts ar HIV;
- 13) pacients nav inficēts ar HCV;
- 14) pacients nav narkomāns;
- 15) pacients neslimo ar hronisku alkoholismu;
- 16) pacients neslimo ar nieru mazspēju;
- 17) pacientam nav traucēta aknu funkcija.

Promocijas darbā izņēmuma kārtā tika iekļauts viens unikāls klīniskais gadījums, kas attēlo divu vienādu operāciju atšķirīgus rezultātus saistībā ar latentas / persistējošas vai aktīvas HHV-6 un HHV-7 infekcijas klātbūtni. Šis bija gadījums ar zēnu, kuram 6 mēnešu vecumā tika diagnosticēta 1. tipa neurofibromatoze. Zēnam ar viena gada intervālu, 5 un 6 gadu vecumā, tika veiktas divas atkārtotas mikrovaskulārā brīvā lēvera operācijas ar mērķi likvidēt lielā lielakaula pseidoartiozi. Operāciju rezultāti bija atšķirīgi atkarībā no tā, vai zēnam perioperatīvi bija konstatēta latentā / persistējoša vai aktīva HHV-6 un HHV-7 infekcija. Anestēzijas nodrošinājums, HHV-6 un HHV-7 infekcijas diagnostika un imūno šūnu skaita noteikšana bija identiska ar pārējiem pētījumā iekļautajiem pacientiem.

2.2. Pacientu izlase

Visu pētījumā iekļauto pacientu vidējais vecums bija 43,21 ($\pm 14,55$) gadi, minimālais vecums bija 18 gadi, maksimālais vecums – 80 gadi. Vecuma amplitūda bija 62 gadi, modālais jeb visbiežāk sastopamais vecums – 33 gadi, vecuma mediāna – 43 gadi. Pirmā vecuma kvartile bija 33 gadi, trešā vecuma kvartile – 53,50 gadi, vecuma starpkvartiļu amplitūda – 20,50 gadi. Tātad 50% pacientu bija vecumā no 33 līdz 53,50 gadiem. Pacientu vecuma asimetrijas koeficients bija 0,09 ($\pm 0,25$), bet vecuma ekscesa koeficients – 0,40 ($\pm 0,50$). Balstoties uz Šapiro–Vilka testu (*Schapiro–Wilk test*), tika secināts, ka visu pētījumā iekļauto pacientu vecuma sadalījums atbilst normālsadalījumam ($p = 0,25$). Visu pētījuma grupas pacientu vecuma struktūra histogrammas veidā ir parādīta 2.2. attēlā un kastveida diagrammas veidā 2.3. attēlā.

2.2. attēls. Visu pacientu vecuma histogramma

2.3. attēls. **Pacientu vecuma kastveida diagramma**

Visu pētījuma grupā iekļauto pacientu vidējais vecums bija 41,02 ($\pm$ 13,70) gadi. Pētījuma grupas VA apakšgrupā iekļauto pacientu ($n = 35$) vidējais vecums bija 42,31 ($\pm$ 13,45) gadi, savukārt RA apakšgrupas pacientu ($n = 23$) vidējais vecums bija 42,04 ($\pm$ 15,26) gadi. Balstoties uz neatkarīgo izlašu t testu (*independent samples t-test*), tika secināts, ka pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās pacientu vidējais vecums statistiski ticami neatšķiras ($p = 0,94$). Pētījuma grupas VA un RA apakšgrupu pacientu vecumu sadalījums ir parādīts 2.4. attēlā.

2.4. attēls. Pētījuma grupas VA un RA apakšgrupu pacientu vecuma histogramma

Kontroles grupā visu pacientu vidējais vecums bija 46,02 ($\pm 15,13$) gadi. Savstarpēji salīdzinot pacientu vidējos vecumus pētījuma un kontroles grupās, balstoties uz neatkarīgo izlašu t testu, tika konstatēts, ka abi lielumi statistiski ticami neatšķīrās ($p = 0,10$). Kontroles grupas VA pacientu apakšgrupā iekļauto pacientu ($n = 16$) vidējais vecums bija 51,75 ($\pm 13,89$) gadi, savukārt RA apakšgrupā iekļauto pacientu ($n = 15$) vidējais vecums bija 38,00 ($\pm 14,21$) gadi. Balstoties uz neatkarīgo izlašu t testu, tika secināts, ka kontroles grupas VA apakšgrupas pacienti ir statistiski ticami vecāki nekā RA apakšgrupas pacienti ($p = 0,005$). Kontroles grupas VA un RA apakšgrupu pacientu vecumu sadalījums ir parādīts 2.5. attēlā.

2.5. attēls. **Kontroles grupas VA un RA apakšgrupu pacientu vecuma histogramma**

Savstarpēji salīdzinot VA anestēzijas apakšgrupu pacientu vidējo vecumu pētījuma grupā un kontroles grupā, neatkarīgo izlašu t tests liecināja, ka kontroles grupā VA apakšgrupas pacientu vidējais vecums ir statistiski ticami lielāks nekā pētījuma grupas VA apakšgrupas pacientiem ($p = 0,02$). Pētījuma un kontroles grupas RA apakšgrupu pacientu vidējie vecumi statistiski ticami neatšķīrās ($p = 0,41$). Pētījuma un kontroles grupu VA un RA apakšgrupu pacientu vecumu salīdzinājums ir parādīts 2.6. attēlā.

2.6. attēls. Pētījuma un kontroles grupas pacientu vecuma kastveida diagramma

Pētījuma grupā tika iekļauti 37 (63,79%) vīrieši un 21 (36,21%) sievietes. No tiem VA saņēma 22 (62,88%) vīrieši un 13 (37,14%) sievietes. RA attiecīgi saņēma 15 (65,22%) vīrieši un 8 (34,78%) sievietes. Pīrsona hī kvadrāta (χ^2) tests (*Pearson chi-square χ^2 test*) parādīja, ka nepastāv statistiski ticama sakarība starp dzimumu un anestēzijas veidu.

Laika periods no traumas brīža līdz ilgstošajai brīvā lēvera operācijai pētījuma grupas VA apakšgrupā bija $3,35 (\pm 5,47)$ gadi, RA apakšgrupā $4,78 (\pm 8,20)$. Savstarpēji salīdzinot laika periodu no traumas brīža vai cita etioloģiskā faktora iedarbības līdz ilgstošajai brīvā lēvera operācijai starp pētījuma grupas VA un RA apakšgrupām, Manna–Vitnija tests (*Mann–Whitney test*) parādīja, ka šis parametrs starp RA un VA apakšgrupām statistiski ticami neatšķiras ($p = 0,78$).

Vidējais iepriekšējo operāciju skaits laika periodā no traumas brīža vai cita etioloģiskā faktora iedarbības līdz ilgstošajai brīvā lēvera operācijai pētījuma grupas VA apakšgrupā bija $2,80 (\pm 1,93)$, bet RA apakšgrupā – $1,78 (\pm 1,93)$. Salīdzinot iepriekšējo operāciju skaitu līdz ilgstošajai brīvā lēvera operācijai starp pētījuma grupas VA un RA apakšgrupām, neatkarīgo izlašu Manna–Vitnija tests liecināja, ka vidējais iepriekšējo operāciju skaits kontroles grupas VA apakšgrupā ir lielāks nekā RA apakšgrupā ($p = 0,04$). Iepriekšējo operāciju skaits pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās parādīts 2.7. attēlā.

2.7. attēls. Iepriekšējo operāciju skaits pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās

Vidējais mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas ilgums pētījuma grupas VA apakšgrupā bija $320,57 (\pm 86,94)$ min., RA apakšgrupā $341,74 (\pm 119,23)$ min. Salīdzinot brīvā lēvera operāciju vidējos ilgumus starp pētījuma grupas VA un RA apakšgrupām, neatkarīgo izlašu t tests rādīja, ka vidējais operācijas ilgums starp RA un VA apakšgrupām statistiski ticami neatšķiras ($p > 0,05$). Vidējais operācijas ilgums kontroles grupas VA apakšgrupā bija $45,00 (\pm 10,08)$ min., savukārt RA apakšgrupā $41,33 (\pm 10,43)$ min. Salīdzinot operāciju vidējos ilgumus starp kontroles grupas VA un RA apakšgrupām, neatkarīgo izlašu t tests rādīja, ka vidējais operācijas ilgums starp RA un VA apakšgrupām statistiski ticami neatšķiras ($p > 0,05$). Operāciju ilgums pētījuma grupas un kontroles grupas VA un RA apakšgrupās parādīts 2.8. attēlā.

2.8. attēls. Operāciju ilgums pētījuma un kontroles grupas VA un RA apakšgrupās

Pētījuma grupas pacientu vispārējais raksturojums ir apkopots 2.1. tabulā.

2.1. tabula

Pētījuma grupas pacientu raksturojums

Parametrs	Vispārējā anestēzija (n = 35)	Reģionālā anestēzija (n = 23)
Vecums, gadi	42,31 ($\pm$ 13,45)	42,04 ($\pm$ 15,26)
Dzimums, V/S, n	22/13	15/8
ASA 1	11 (34,43%)	13 (56,52%)
ASA 2	21 (57,00%)	9 (39,13%)
ASA 3	3 (8,57%)	1 (4,35%)
Iepriekšējo operāciju skaits, n	2,80 ($\pm$ 1,93)	1,78 ($\pm$ 1,24)
Brīvā lēvera operācijas ilgums (min.)	320,57 ($\pm$ 86,94)	341,74 ($\pm$ 119,23)

Iemesli operācijai pētījuma grupā ir apkopoti 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Operācijas iemesli pētījuma grupā

Operācijas iemesls	Vispārējā anestēzija (n = 16)	Reģionālā anestēzija (n = 15)
Augšējās ekstremitātes trauma	4 (11,43%)	8 (34,78%)
Apakšējās ekstremitātes trauma	23 (65,71%)	12 (52,17%)
Plaša operācija onkoloģiskas saslimšanas dēļ	7 (20,00%)	3 (13,04%)
Stāvoklis pēc galvaskausa lūzuma ar skalpa bojājumu	1 (2,86%)	0 (0,00%)

Kontroles grupā tika iekļauti 19 (61,29%) vīrieši un 12 (38,71%) sievietes. VA saņēma 10 (62,50%) vīrieši un 6 (37,50%) sievietes. RA saņēma attiecīgi 9 (60,00%) vīrieši

un 6 (40,00%) sievietes. Pīrsona χ^2 tests liecināja, ka nepastāv statistiski ticama sakarība starp dzimumu un anestēzijas veidu ($p = 0,40$).

Lai gan, balstoties uz neatkarīgo izlašu t testu, tika secināts, ka kontroles grupas VA apakšgrupas pacienti ir statistiski ticami vecāki nekā RA apakšgrupas pacienti ($p = 0,005$), visi kontroles grupas pacienti bija praktiski veseli cilvēki (ASA 1-2) un atbilda visiem iekļūšanas kritērijiem. Visiem pacientiem tika veikta īsas perifērās operācijas ar mazu audu traumatismu. Anestēzijas izvēli noteica operējamās vietas lokalizācija un pacienta vēlmes.

Vidējais operācijas ilgums kontroles grupas VA apakšgrupā bija $45 (\pm 10,08)$ min., RA apakšgrupā $41,33 (\pm 10,43)$ min. Salīdzinot operāciju vidējos ilgumus starp kontroles grupas VA un RA apakšgrupām, neatkarīgo izlašu t tests rādīja, ka vidējais operācijas ilgums starp RA un VA apakšgrupām statistiski ticami neatšķiras ($p = 0,26$).

Kontroles grupas pacientu vispārējais raksturojums ir apkopots 2.3. tabulā.

2.3. tabula

Kontroles grupas pacientu raksturojums

Parametrs	Vispārēja anestēzija (n = 16)	Reģionālā anestēzija (n = 15)
Vecums, gadi	51,75 ($\pm 13,89$)	38,00 ($\pm 14,21$)
Dzimums, V/S, n	10/6	9/6
ASA 1	13 (81,25%)	14 (93,33%)
ASA 2	3 (18,75%)	11 (6,67%)
ASA 3	0	0
Operācijas ilgums (min.)	45 ($\pm 10,08$)	41,33 ($\pm 10,43$)

Iemesli operācijai kontroles grupā ir apkopoti 2.4. tabulā.

2.4. tabula

Operācijas iemesli kontroles grupā

Iemesls operācijai	Vispārēja anestēzija (n = 16)	Reģionālā anestēzija (n = 15)
Trauma	8 (50,00%)	13 (86,96 %)
Labdabīgs veidojums	3 (18,75%)	2 (13,04 %)
Nervu kompresija	2 (12,50%)	0 (0,00%)
Cirkulācijas traucējumi	3 (18,75%)	0 (0,00%)

2.3. Anestēzijas nodrošināšana

Lai nodrošinātu optimālu asinsriti brīvajā lēverī, anestēzijas laikā būtiski ir nodrošināt nemainīgi labu atsāpināšanu, atbilstošu vidējo arteriālo spiedienu un vazodilatāciju. Svārstības šajos parametros nelabvēlīgi ietekmē operācijas iznākumu.

Pētījuma grupā pacienti atkarībā no izmantotās anestēzijas metodes tika iedalīti divās apakšgrupās – vispārējās anestēzijas un reģionālās anestēzijas apakšgrupā. Ja plānotā brīvā lēvera donora un recipienta vietu lokalizācija un pacienta psihoemocionālais stāvoklis pieļāva izmantot reģionālo anestēziju, tad prioritāte tika dota reģionālajai anestēzijai. Neatkarīgi no pielietotās metodes visi pacienti 30 min. pirms nokļūšanas operāciju zālē saņēma anesteziologa nozīmētu premedikāciju ar midazolamu 7,5 mg p/o. Pirms anestēzijas uzsākšanas visiem pacientiem tika nodrošināta atbilstoša liela lūmena perifērā intravenozā pieeja. Visi pacienti pirms ievadanestēzijas pēcoperācijas nelabas dūšas un vemšanas profilaksei saņēma 5-HT receptoru antagonistu. Izvēles medikaments bija granisetrons, jo tam ir ilgstoša iedarbība.

Vispārējā anestēzija visiem pētījumā iekļautajiem pētījuma grupas pacientiem tika nodrošināta pēc vienotas shēmas. Ievadanestēzijā tika izmantots propofols (1,5–2,0 mg/kg) un fentanils (1,5 µg/kg). Lai nodrošinātu optimālus apstākļus trahejas intubācijai, miorelaksācija tika panākta ar cisatrakūriju (0,15 mg/kg). Elpceļi tika nodrošināti ar endotraheālo intubāciju. Anestēzija tika uzturēta ar izoflurānu (minimālā alveolārā koncentrācijā (MAK) 0,5–1,0), fentanilu 2 µg/(kg·h) un cisatrakūriju (0,03 mg/(kg·h)). Nepārtraukta fentanila un cisatrakūrija ievade tika nodrošināta, izmantojot divus atsevišķus perfuzorus. Lai nodrošinātu intravenozu šķidruma ievadi un nepārtrauktu centrālā venozā spiediena mērīšanu, pēc ievadanestēzijas tika punktēta *v. jugularis interna* un ievadīts divlūmenu katetrs. Vispārējās anestēzijas laikā visiem pacientiem tika nodrošināts atbilstošs trīs novadījumu EKG, hemoglobīna piesātinājuma ar skābekli (SaO₂), frakcionētā ieelpojamā skābekļa koncentrācijas (FiO₂), frakcionētās izelpojamās ogļskābās gāzes koncentrācijas (EtCO₂), gaistošo anestēzijas vielu minimālās alveolārās koncentrācijas (MAK), centrālās (sensors barības vadā) un perifērās temperatūras (sensors padusē), centrālā venozā spiediena (CVP) un neinvazīvā arteriālā spiediena monitorings. Mākslīgajā plaušu ventilācijā tika izmantota spiediena vai tilpuma kontrolēta metode. Anestēzijas dziļuma vērtēšanai tika izmantota BIS-bispektrālā analīzes metode, nosakot bispektrālo indeksu (BIS). BIS tika nodrošināts diapazonā no 20 līdz 40. BIS noteikšanai tika izmantots *Quattro*, ražotājs *Aspect medical systems*. Diurēzes vērtēšanai visiem pacientiem tika veikta urīnpūšļa katetrizācija un nepārtraukta diurēzes mērīšana, mērījumi visas operācijas gaitā tika dokumentēti. Par adekvātu asinsvadu tilpumu liecināja

diurēze 1 ml/(kg·h). Visiem pacientiem operācijas un anestēzijas laikā tika veikta asins gāzu analīze. Pēc operācijas un anestēzijas vielu pievades pārtraukšanas tika nodrošināta maksimāli gluda pamošanās fāze. Lai novērstu iespējamu uzbudinājumu, drebuļus un hemodinamikas svārstības ekstubācijas laikā, pacientiem tika ļauts mosties mierīgi, spontāni elpojot caur intubācijas caurulīti ar nolaistu manšeti.

Reģionālās anestēzijas nodrošināšanai vienlaikus tika izmantotas divas metodes – spinālā anestēzija un *plexus brachialis* bloks, izmantojot supraklavikulāro vai aksilāro pieeju.

Nervu identificēšanai tika izmantota nervu stimulācijas un/vai ultraskaņas metode ar *Braun* neirostimulatoru. Izmantojot neirostimulatoru, sākuma strāvas stiprums bija 1–1,5 mA, frekvence 1–2 Hz, ilgums 100 ms. Adata virzība bija ļoti lēna. Nerva identifikācija tika apstiprināta pēc inervējamo muskuļu kontrakcijām. Pēc nerva lokalizācijas strāvas stiprums tika samazināts līdz 0,5 mA. Adata pozīcija tika koriģēta, to kustinot trīs plaknēs, lai iegūtu adekvātu muskuļu motoro atbildi, neizraisot parestēzijas. *Plexus brachialis* blokam tika izmantots 20 mL 0,5% bupivakaīns vai 20 mL 0,5% levobupivakaīns kombinācijā ar 20 mL 1% lidokaīnu. Veicot aspirācijas testu, tika izslēgta intravaskulāra lokālās anestēzijas vielas ievade.

Spinālajai anestēzijai punkcija tika veikta L₂–L₃ līmenī, izmantojot centrālo vai paramediāno pieeju. No medikamentiem tika izmantots izobāriskais bupivakaīns, kā adjuvanti tika izmantoti 15 µg fentanila. Spinālajai punkcijai visos gadījumos tika izmantotas 27 G adata. Visi pacienti, kuriem tika izmantota reģionālā anestēzija, operācijas laikā pēc klīniskās nepieciešamības tika sedēti ar midazolāmu. Izmantotās devas bija atkarīgas no klīniskās situācijas.

Šķidrumu aizvietošanai infūzijā izmantoja siltu (37 °C) kristaloīdu un koloīdu šķīdumu kombinācijas. Infūzijas šķidrumu sildīšanai tika izmantota *PEH* šķidrumu sildīšanas ierīce. No koloīdiem tika izmantoti dekstrāni un cietes šķīdumi. Infūzijas terapijas mērķis bija izvairīties no absolūtās un relatīvas hipovolēmijas un nepieļaut sirds izsviedes krišanos. Atbilstoši vadlīnijām tika panākts un nodrošināts optimāls hematokrīts (ap 30%), lai nodrošinātu optimālu skābekļa pānesi uz audiem, un CVP tika uzturēts 10–15 cm H₂O (3–5 cm H₂O virs normas). Eritrocītu transfūzija tika veikta tikai tad, kad hemoglobīna līmenis samazinājās zem 7g/dl. Lai uzturētu optimālu pacientu ķermeņa temperatūru un novērstu pacientu ķermeņa temperatūras pazemināšanos, visi pacienti tika guldīti uz apsildāma operācijas galda un pārsegti ar gaisa plūsmu sildāmu segu. Operāciju zālē tika nodrošināta konstanta temperatūra 24 °C. Anesteziologa mērķis bija nodrošināt starpību starp centrālo un perifērisko temperatūru 1 °C robežās.

Lai nodrošinātu optimālu pacientu aprūpi un monitoringu, pēc operācijas visi pacienti tika ievietoti intensīvās terapijas nodaļā. Pēcoperācijas periodā visiem pacientiem tika nodrošināta normotermija – starpība starp centrālo un perifēro temperatūru 1 °C robežās, infūziju terapija, lai uzturētu hiperdinamisku asinsriti (augsta sirds izviede, vāja sistēmiskā rezistence, normāls asinsspiediens, hematokrīts 30% (pārbaudot ik 6 h pirmo 24 h laikā), diurēze > 1 ml/(kg·h), SpO₂ > 94% (O₂ pirmo 24 h laikā).

Kontroles grupas pacienti atkarībā no izmantotās metodes arī tika iedalīti divās – vispārējās un reģionālās anestēzijas – apakšgrupās. Neatkarīgi no pielietotās metodes visi pacienti 30 min. pirms nokļūšanas operāciju zālē saņēma anesteziologa nozīmētu premedikāciju ar midazolamu 7,5 mg p/o. Visiem pētījumā iekļautajiem kontroles grupas pacientiem vispārējā anestēzijā tika izmantota viena un tā pati anestēzijas metode. Ievadanestēzijā visiem pacientiem tika izmantots propofols (1,5–2,0 mg/kg) un fentanils (1,5 µg/kg). Elpceļu nodrošināšanai tika izmantota laringeālā maska vai endotraheālā intubācija. Lai nodrošinātu optimālus apstākļus trahejas intubācijai, miorelaksācijai tika izmantots cis-atrakūrijs (0,15 mg/kg). Anestēzijas uzturēšanai tika izmantots sevoflurāns (minimālā alveolārā koncentrācija (MAK) 0,8–1,2) un fentanils.

Kontroles grupā, kurā tika lietota reģionālā anestēzija, anestēzijas nodrošināšanai tika izmantotas divas metodes – *plexus brachialis* bloks, izmantojot aksilāro pieeju, vai spinālā anestēzija. Nervu identificēšanai tika izmantota ultrasonogrāfijas metode. Identificēja četrus nervus: *n. ulnaris*, *n. medianus*, *n. radialis* un *n. musculocutaneus*. Adatas virzība bija ļoti lēna, adatas stāvokļa identifikācijai tika izmantota *in-plane* tehnika. Visos gadījumos tika izmantota viena dūriena tehnika. *Plexus brachialis* blokam tika izmantoti 20 mL 0,5% levobupivakaīns kombinācijā ar 20 mL 1% lidokaīnu. Vienmēr tika veikts aspirācijas tests, lai izslēgtu intravaskulāru lokālās anestēzijas vielas ievadi.

Spinālās anestēzijas gadījumā punkcija tika veikta L₂–L₃ līmenī, izmantojot centrālo pieeju. No medikamentiem tika izmantots izobāriskais spinālais bupivakaīns. Spinālajai punkcijai visos gadījumos tika izmantotas 27 G adatas.

Kontroles grupas pacienti, kuri saņēma reģionālo anestēziju, operācijas laikā netika sedēti.

2.4. Vīrusu infekcijas diagnostikas metodes

Gan no pētījuma, gan no kontroles grupas pacientiem, lai noteiktu latentas vai aktīvas HHV-6 un HHV-7 infekcijas klātbūtni, no vēnas tika iegūtas asinis ar antikoagulantu (EDTA). Asins paraugi tika ņemti operācijas dienas rītā, pirms operācijas. Atkārtoti asins paraugi tika ņemti 14. pēcoperācijas dienā. Asins plazma pēc centrifugēšanas (1400 apgr./min × 20min un 9000 apgr./min × 20min) tika glabāta –70 °C. Vīrusu genomu secību atradne perifēro asiņu leukocītu DNS paraugos bija latentas infekcijas marķieris, bet vīrusu genomu secību atradne DNS, kas izdalīta no šūnām, bija brīvas asins plazmas – aktīvas infekcijas marķieris.

2.4.1. DNS sagatavošana un kvalitātes pārbaude

DNS tika izolēta no perifēro asiņu limfocītiem (PBL) un no šūnām brīvas asins plazmas. Šūnas tika lizētas 80 µl 5× proteināzes K bufera (0,375 M NaCl, 12 M EDTA pH 8,0), 20 µl SDS, 30 µl proteināzes K (10 mg/ml) un 240 µl dejonizēta ūdens (kopējais tilpums 400 µl), tam sekoja vienu stundu ilga inkubācija 55 °C. DNS tika ekstrahēta, izmantojot apstrādāšanu ar fenolu-hloroformu, precipitēta ar etanolu, izšķīdināta 50–150 µl dejonizēta ūdens un glabāta –70 °C. *QIAamp Blood Kit* (*Qiagen GmbH*, Vācija) tika izmantots, lai ekstrahētu DNS no 200 µl asins plazmas paraugiem saskaņā ar ražotāju instrukciju. Izolēto nukleīnskābju daudzums un tīrība tika noteikti spektrofotometriski.

β-globīna PĶR (polimerāzes ķēdes reakcija) tika izmantota, lai noteiktu izdalīto DNS paraugu kvalitāti. Pārbaudot no plazmas izdalīto DNS kvalitāti, negatīvs β-globīna PĶR rezultāts liecina par to, ka DNS paraugā nav šūnu piemaisījuma, kas ir ļoti būtiski, pārbaudot vīrusa reaktivāciju. Lietotais reakcijas maisījums izklāstīts 2.5. tabulā.

2.5. tabula

PĶR lietoto reaģentu uzskaitījums

Reaģenti	Uz 25µl	Konc.
Taq buPCR buf. + KCl–MgCl ₂	2,5	—
d NTP	0,5	0,2 mM
MgCl ₂	2,0	25 mM
praimeris GS268	0,35	0,1–1 µM
praimeris GS269	0,38	0,1–1 µM
Taq	0,1	5U/100µl
H ₂ O	17,17	—

Praimeru secība β -globīna gēna noteikšanai bija:

GS268 5'-ACACAACTGTGTTCCTACTAGC-3'

GS269 5'-TGGTCTCCTTAAACCTGTCTTG-3'

Sagatavotajam maisījumam pievienoja 2 μ l šķīduma, kas saturēja 1 μ g tīras DNS un amplifikēja. 40 amplifikācijas ciklu apstākļi bija sekojoši: 95 °C – vienu minūti, 55 °C – 30 sekundes, 72 °C – 45 sekundes; pēdējais posms – sintēze – ilga 7 minūtes pie 72 °C un notika tad, kad bija beigušies iepriekšminētie 40 cikli.

Paredzamā PĶR produkta garums bija 200 bp (pēc marķiera pU C19 DNA/MspI (Hpa2) Marker23 (MBI Fermantes Lietuva)) rezultāti tika vizualizēti un apstrādāti, izmantojot *Kodak Electrophoresis Documentation and Analysis System (EDAS) 290*, ASV.

2.4.2. HHV-6 genoma secības noteikšana ar nPĶR

HHV-6 genoma sekvenču noteikšanu veica ar praimeru komplektiem saskaņā ar *Bandobashi et al.* (1997). Lietotie praimeri bija komplementāri kapsīda galvenos proteīnus kodējošam gēnam, un tie atpazīna abus HHV-6 vīrusa tipus (A un B). Kā pozitīvā kontrole tika izmantota DNS, kas izolēta no HHV-6B (Z-29) virioniem (dāvinājums no *Dr. S. Dewhurst*, Ročesteras Medicīnas centra universitātes, Ņujorkā, ASV).

Praimeru secība (U 3):

1. cikls: HV1 forward – 5'-GCGTTTTTCAGTGTGTAGTTCGGCAG- 3'

HV2 reverse – 5'-GGCCGCATTCGTACAGATACGGAGG- 3'

2. cikls: HV3 forward – 5'-GCTAGAACGTATTTGCTGCAGAACG- 3'

HV4 reverse – 5'-ATCCGAAACAACCTGTCTGACTGGCA- 3'

PĶR 1. cikla amplifikācijas maisījuma (50 μ l) pagatavošanai vienam paraugam izmantoja:

- 1) 5 μ l 10x PĶR buferi;
- 2) 3 μ l 25 mM MgCl₂;
- 3) 1 μ l 10 mM dNTP;
- 4) 0,2 μ l 100 μ M HV61 praimeri;
- 5) 0,2 μ l 100 μ M HV62 praimeri;
- 6) 0,2 μ l 5U/ μ l Taq polimerāzi;
- 5) 30,4 μ l destilēta ūdens;
- 6) 10 μ l DNS parauga (150–200 ng/ μ l).

PĶR 2. cikla amplifikācijas maisījuma (25 µl) pagatavošanai vienam paraugam izmantoja:

- 1) 2,5 µl 10x PĶR buferi;
- 2) 1,5 µl 1,5 mM MgCl₂;
- 3) 0,5 µl 10 mM dNTP;
- 4) 0,1 µl 100 µM HV63 praimeru;
- 5) 0,1 µl 100 µM HV64 praimeru;
- 6) 0,1 µl 5U/µl Taq polimerāzi;
- 7) 15,2 µl destilēta ūdens;
- 8) 5 µl 1. cikla produktu.

Amplifikācijas programma:

- 1) denaturācijas posms – 5 min. 95 °C;
- 2) hibridizācijas posms – 30 cikli – 1 min. 94 °C, 1 min. 60 °C, 1 min. 72 °C;
- 3) elongācijas posms – 8 min. 72 °C.

Amplifikācijas produktus analizēja elektroforētiski 1,7% agarozes gēlā.

UV gaismā ar marķiera pUC19 DNA/MspI (Hpa2) palīdzību noteica paredzamā garuma produkta klātbūtni.

Rezultātus vizualizēja, izmantojot iekārtu UVP *BioSpectrum MultiSpectral Imaging System* (ražota Lielbritānijā). PĶR iegūtais produkta izmērs bija 258 bp.

2.4.3. HHV-7 genoma secības noteikšana ar nPĶR

HHV-7 genoma sekvenču noteikšanu veica, lietojot praimeru komplektu saskaņā ar *Berneman et al.* (1992). Praimeri bija komplementāri U10 gēnam (*Pfeiffer et al.*, 1995).

Praimeru secība (U10) :

1. cikls: HV7 forward – 5'-TATCCCAGCTGTTTTTCATATAGTAAC - 3'
HV8 reverse – 5'-GCCTTGCGGTAGCACTAGATTTTTTG - 3'
2. cikls: HV10 forward – 5'-CAGAAATGATAGACAGATGTTGG - 3'
HV11 reverse – 5'-AGATTTTTTGAAAAAGATTTAATAAC - 3'

PĶR 1. cikla amplifikācijas maisījuma (50 µl) pagatavošanai vienam paraugam izmantoja:

- 1) 5 µl 10x PĶR buferi;
- 2) 3 µl 25 mM MgCl₂;
- 3) 1 µl 10 mM dNTP;
- 4) 0,2 µl 100 µM HV7 praimeru;

- 5) 0,2 µl 100 µM HV8 praimeris;
- 6) 0,2 µl 5U/µl Taq polimerāzi;
- 7) 30,4 µl destilēta ūdens;
- 8) 10 µl DNS parauga (150–200 ng/µl).

PĶR 2. cikla amplifijācijas maisījuma (25 µl) pagatavošanai vienam paraugam izmantoja:

- 1) 2,5 µl 10x PĶR buferis;
- 2) 1,5 µl 25 mM MgCl₂;
- 3) 0,5 µl 10 mM dNTP;
- 4) 0,1 µl 100 µM HV10 praimeris;
- 5) 0,1 µl 100 µM HV11 praimeris;
- 6) 0,1 µl 5U/µl Taq polimerāzi;
- 7) 15,2 µl destilēta ūdens;
- 8) 5 µl 1. cikla produktu.

Amplifikācijas programma:

- 1) denaturācijas posms – 3 min. 94 °C;
- 2) hibridizācijas posms – 30 cikli – 1 min. 94 °C, 2 min. 60 °C, 2 min. 72 °C;
- 3) elongācijas posms – 7 min. 72 °C.

Amplifikācijas produktus analizēja elektroforētiski 1,7% agarozes gēlā. UV gaismā ar marķiera pUC19 DNA/MspI (Hpa2) palīdzību noteica paredzamā garuma produkta klātbūtni. Rezultātus vizualizēja, izmantojot iekārtu *UVP BioSpectrum MultiSpectral Imaging System* (ražota Lielbritānijā). PĶR iegūtais produkta izmērs bija 124 bp.

2.4.4. Vīrusu slodzes noteikšana ar reālā laika PĶR

HHV-6 un HHV-7 slodze noteikta atbilstoši ražotāja instrukcijai ar reālā laika PĶR metodi, kā matricu lietojot DNS, kas izolēta no pilnām asinīm, un izmantojot HHV-6 *Real-TM Quant* (Sacace Biotechnologies, Itālija) un HHV-7 *PrimerDesign Ltd* (Genesig, Apvienotā Karaliste) komerciāli pieejamos darba komplektus.

2.5. Limfocītu subpopulāciju noteikšana

Gan pētījuma, gan kontroles grupas pacientiem, tika izvērtētas imūno šūnu – CD4+ T limfocītu (helperu/regulatoro šūnu), CD8+ T limfocītu (citotoksisko/supresoru šūnu), CD16+ limfocītu (naturālo killeru) un CD38+ limfocītu (aktīvo limfocītu) skaita izmaiņas. CD38+ ir limfocītu aktivācijas marķieris, ko ekspresē T, B limfocīti un naturālie killeri. Lai izvērtētu CD4+, CD8+, CD38+, CD16+ šūnu skaita izmaiņas, operācijas dienas rītā, pirms operācijas tika ņemtas perifērās asinis. Atkārtota asins paraugu paņemšana tika veikta 14. pēcoperācijas dienā. Asinis tika ņemtas no vēnas vakuuma stobriņā ar K3 EDTA. Minimālais asiņu daudzums testam bija 1 ml. Metodes princips – perifēro asins limfocītu subpopulāciju saturs tika noteikts ar lāzera citofluorimetru *FACS Calibur* (*Becton Dickinson*) un monoklonālo antivielu palīdzību. Monoklonālās antivielas, konjugētas ar fluoriscējošo krāsvielu, specifiski saistās ar antigēnu receptoriem uz leukocītu, tostarp limfocītu, virsmas. Pēc asins eritrocītu lizēšanas, leukocītu mazgāšanas un fiksēšanas atsevišķo subpopulāciju saturu noteica automātiski ar lāzera citofluorimetru, izmantojot *SimulSET* programmatūru CD3/4, CD3/CD, CD 16+56 noteikšanai un *CELL Quest* programmatūru CD38 noteikšanai.

2.6. Citokīnu ekspresijas līmeņa analīze

Citokīnu ekspresijas līmeņa noteikšanai tika izmantota enzimatiskā imūnfermentatīvā reakcija ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), kuras darbības princips ir šāds: testa pirmajā solī attiecīgais citokīns, kas atrodas paraugos vai standartā, saistās ar antivielām, kas atrodas uz mikroplates sienīņām; otrajā solī tiek pievienotas biotinilētas antivielas pret attiecīgo citokīnu, kas saistās ar šī citokīna antivielu-antigēnu kompleksu. Pēc tam inkubācijas bedrītes mazgā, lai atbrīvotos no nesaistītajām biotinilētajām antivielām pret attiecīgo citokīnu. Tālāk tiek pievienots streptavidīna-peroksidāzes konjugāts, kas piesaistās pie biotinilētajām antivielām pret attiecīgo citokīnu. Lai atbrīvotos no nesaistītā streptavidīna-peroksidāzes konjugāta, vēlāk inkubācijas bedrītes mazgā un pievieno substrātu, kas reaģē ar peroksidāzi. Reakcijas rezultātā veidojas krāsains produkts, kura krāsas intensitāte ir proporcionāla citokīna koncentrācijai paraugā vai standartā.

Lai mērītu IL-1 β (interleikīns-viens beta) līmeni plazmā, tika izmantots IL-1 β ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) darba komplekts (*IBL Inertantional GMBH*, Vācija), kura sensitivitāte ir 0,3 pg/ml. IL-2 (interleikīna-2) līmeņa mērīšanai plazmā tika izmantots IL-2 ELISA darba komplekts (*IBL Inertantional GMBH*, Vācija) ar sensitivitāti 9,1 pg/ml. Lai mērītu IL-6 (interleikīna-6) līmeni plazmā, tika izmantots IL-6 ELISA darba komplekts

(*IBL International GMBH*, Vācija) ar sensitivitāti 0,92 pg/ml, savukārt TNF- α līmeņa mērīšanai plazmā tika izmantots TNF- α ELISA darba komplekts (*IBL International GMBH*, Vācija), kura sensitivitāte ir 5 pg/ml.

2.7. Pielietotās statistikas metodes

Datu statistiskā apstrāde tika veikta ar *SPSS* programmu (*IBM SPSS Statistics Version 23, SPSS inc., ASV*).

Kvantitatīvie mainīgie tika aprakstīti ar vidējo aritmētisko un standartnovirzi ($\pm$ SD). Gadījumos, kad sadalījums atšķīrās no normālsadalījuma, tika aprēķināta mediāna un starpkvartiļu izkliedes amplitūda. Normālsadalījuma pārbaudei izmantoja Šapiro–Vilka (*Shapiro–Wilk*) testu.

Kategoriskie jeb kvalitatīvie mainīgie tika raksturoti kā skaits un procentuāla proporcija. Normālsadalīto kvantitatīvo mainīgo salīdzinājumi tika veikti ar neatkarīgo izlašu *t*-testu divām grupām. Gadījumos, kad pētāmā pazīme neatbilda normālsadalījumam, tika izmantots atbilstošs neparametriskais Manna–Vitnija tests (*Mann–Whitney test*). Kategoriskie jeb kvalitatīvie mainīgie tika salīdzināti ar Pīrsona χ^2 (*Pearson chi square*) testu vai Fišera (*Fisher*) eksakto testu atbilstoši šo testu lietošanas nosacījumiem.

Atbilstoši vispārpieņemtiem principiem *p* vērtība $< 0,05$ tiks uzskatīta par divpusējo testu rezultātu statistiskās ticamības sliekšni.

3. REZULTĀTI

3.1. HHV-6 infekcijas sastopamība pētījuma un kontroles grupās pirms un pēc operācijas

HHV-6 un HHV-7 infekcijas klātbūtne pirms un pēc operācijas tika noteikta visiem pētījumā iesaistītajiem pētījuma un kontroles grupas pacientiem.

Pētījuma grupā (n = 58) pirms ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas latentā/persistējoša HHV-6 infekcija tika konstatēta 20 (34,48%) pacientiem, aktīva HHV-6 infekcija – 4 (6,9%) pacientiem, bet 34 (58,62%) pacientiem HHV-6 infekcija vispār netika konstatēta.

Kontroles grupā (n = 31) pirms īslaicīgas operācijas latentā/persistējoša HHV-6 infekcija tika konstatēta 4 (12,90%) pacientiem, aktīva HHV-6 infekcija netika konstatēta nevienam kontroles grupas pacientam. 27 (87,10%) kontroles grupas pacientiem HHV-6 infekcija vispār netika konstatēta. HHV-6 infekcijas sastopamība pirms operācijas visiem pētījuma un kontroles grupu pacientiem parādīta 3.1. attēlā.

3.1. attēls. HHV-6 infekcijas sastopamība pirms operācijas visiem pētījuma un kontroles grupu pacientiem

Atsevišķi tika analizētas VA un RA apakšgrupas gan pētījuma, gan kontroles grupās. Pētījuma grupas VA apakšgrupas pacientiem (n = 35) pirms operācijas latentā / persistējoša HHV-6 infekcija tika konstatēta 14 (40,00%) gadījumos, aktīva HHV-6 infekcija – 2 (5,71%)

gadījumos. Nosakot vīrusa slodzi ar reālā laika PQR, pirms operācijas tika konstatēts, ka visiem 16 pacientiem, kuriem bija latentā/persistējoša vai aktīva HHV-6 infekcija, vīrusa slodze bija < 10 HHV-6 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS. 19 (54,29%) pacientiem HHV-6 infekcija vispār netika konstatēta.

Savukārt kontroles grupas VA apakšgrupas pacientiem ($n = 16$) pirms operācijas latentā/persistējoša HHV-6 infekcija tika konstatēta 2 (12,50%) pacientiem – vīrusa slodze abiem pētāmajiem pacientiem bija < 10 HHV-6 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS. Aktīva HHV-6 infekcija netika konstatēta nevienam kontroles grupas VA apakšgrupas pacientam, 14 (87,50%) pacientiem HHV-6 infekcija vispār netika konstatēta. HHV-6 infekcijas sastopamība pirms operācijas pētījuma un kontroles grupu VA apakšgrupās parādīta 3.2. attēlā.

3.2. attēls. HHV-6 infekcijas sastopamība pirms operācijas pētījuma un kontroles grupu VA apakšgrupās

Pētījuma grupas RA apakšgrupā ($n = 23$) pirms operācijas, latentā/persistējoša HHV-6 infekcija tika konstatēta 6 (26,09%) pacientiem, aktīva – 2 (8,70%) pacientiem. Nosakot vīrusa slodzi ar reālā laika PQR, pirms operācijas tika konstatēts, ka 6 pacientiem vīrusa slodze bija < 10 HHV-6 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS. Diviem pacientiem tika konstatēta augsta vīrusa slodze. Vienam no pētāmajiem pacientiem, kuram pirms operācijas bija konstatēta aktīva HHV-6 infekcija, vīrusa slodze bija 7620,23 HHV-6 kopijas/ 1×10^6 šūnām un 1154,58 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS. Otrajam pacientam, kuram tika konstatēta augsta vīrusa slodze – 6676,3 HHV-6 kopijas/ 1×10^6 šūnām un 1011,56

HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g DNS}$, bija latentā/persistējošā HHV-6 infekcija. 15 (65,22%) pacientiem HHV-6 infekcija vispār netika konstatēta.

Kontroles grupas RA apakšgrupā ($n = 15$) pirms operācijas latentā/persistējošā HHV-6 infekcija tika konstatēta 2 (13,33%) pacientiem – vīrusa slodze abiem pacientiem bija < 10 HHV-6 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas / $1 \times \mu\text{g DNS}$. Aktīva HHV-6 infekcija nevienam no atlikušajiem 13 (86,67%) kontroles grupas VA apakšgrupas pacientiem vispār netika konstatēta. HHV-6 infekcijas sastopamība pirms operācijas pētījuma un kontroles grupu RA apakšgrupās parādīta 3.3. attēlā.

3.3. attēls. HHV-6 infekcijas sastopamība pirms operācijas pētījuma un kontroles grupu RA apakšgrupās

Savstarpēji salīdzinot aktīvas un latentas / persistējošas HHV-6 infekcijas biežumus pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās pirms operācijas, netika konstatēts statistiski nozīmīgas atšķirības ($p > 0,05$).

Savstarpēji salīdzinot latentas / persistējošas HHV-6 infekcijas biežumu kontroles grupas VA un RA apakšgrupās pirms operācijas, netika konstatēts statistiski nozīmīgas atšķirības ($p = 0,45$).

Pēc ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas pētījuma grupas VA apakšgrupā vienam pacientam tika konstatēta latenta / persistējošā HHV-6 infekcijas aktivācija. Veicot vīrusu slodzes pārbaudi, pacientam, kuram tika konstatēta HHV-6 infekcijas aktivācija, vīrusu slodze neizmainījās un saglabājās < 10 HHV-6 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g DNS}$. Arī pārējiem pacientiem, kuriem pēc operācijas saglabājās

latenta/persistējoša vai aktīva HHV-6 infekcija, vīrusu slodze bija < 10 HHV-6 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS.

Salīdzinot aktīvas HHV-6 infekcijas biežumu pētījuma grupas VA apakšgrupā pirms un pēc operācijas, pēc operācijas tika konstatēts aktīvas HHV-6 infekcijas sastopamības pieaugums bez statistiskās ticamības ($p = 0,31$).

Pēc īslaicīgas operācijas nevienam kontroles grupas VA apakšgrupas pacientam latentas/persistējošas HHV-6 infekcijas aktivācija netika konstatēta. Visiem pacientiem, kuriem tika konstatēta latentā/persistējoša HHV-6 infekcija pēc operācijas, vīrusu slodze bija < 10 HHV-6 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS. HHV-6 infekcijas sastopamība pētījuma un kontroles grupu VA apakšgrupās pēc operācijas parādīta 3.4. attēlā.

3.4. attēls. **HHV-6 infekcijas sastopamība pēc operācijas pētījuma un kontroles grupu VA apakšgrupās**

Pēc ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas pētījuma grupas RA apakšgrupā nevienam pacientam latentas/persistējošas HHV-6 infekcijas aktivācija netika konstatēta.

Kontroles grupā pēc īslaicīgas operācijas nevienam RA apakšgrupas pacientam latentas/persistējošas HHV-6 infekcijas aktivācija netika konstatēta. HHV-6 infekcijas sastopamība pēc operācijas pētījuma un kontroles grupu RA apakšgrupās parādīta 3.5. attēlā.

3.5. attēls. HHV-6 infekcijas sastopamība pēc operācijas pētījuma un kontroles grupās RA apakšgrupās

3.2. HHV-7 infekcijas sastopamība pirms un pēc operācijas pētījuma un kontroles grupās

Pētījuma grupā (n = 58) pirms ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas latentā / persistējoša HHV-7 infekcija tika konstatēta 42 (72,41%) pacientiem.

Aktīva HHV-7 infekcija tika konstatēta 7 (12,07%) pacientiem, bet 9 (15,52%) pētījuma grupas pacientiem HHV-7 infekcija vispār netika konstatēta.

Kontroles grupā (n = 31) pirms īslaicīgas operācijas latentā / persistējoša HHV-7 infekcija tika atrasta 9 (29,03%) pacientiem. Aktīva HHV-7 infekcija netika konstatēta nevienam no kontroles grupas pacientiem. 22 (70,97%) kontroles grupas pacientiem HHV-7 infekcija vispār netika konstatēta.

HHV-7 infekcijas sastopamība pirms operācijas pētījuma un kontroles grupā visiem pacientiem parādīta 3.6. attēlā.

3.6. attēls. **HHV-7 infekcijas sastopamība pirms operācijas visiem pētījuma un kontroles grupas pacientiem**

Analizējot atsevišķi VA un RA apakšgrupas, tika fiksēta šāda aina: pētījuma grupas VA apakšgrupas pacientiem ($n = 35$) pirms operācijas latentā / persistējoša HHV-7 infekcija tika konstatēta 26 (74,29%) gadījumos, aktīva HHV-7 infekcija – 3 (8,57%) gadījumos.

Nosakot vīrusa slodzi ar reālā laika PQR, pirms operācijas tika konstatēts, ka 27 pacientiem, kuriem bija latentā/persistējoša vai aktīva HHV-7 infekcija, vīrusa slodze bija < 10 HHV-7 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS. Diviem pacientiem tika konstatēta augsta HHV-7 slodze. Vienam no viņiem ar aktīvu HHV-7 infekciju vīrusa slodze bija 5419,5 HHV-7 kopijas/ 1×10^6 šūnām un 821,13 HHV-7 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS, bet otram ar latentu/persistējošu HHV-7 infekciju vīrusa slodze bija 6937,33 HHV-7 kopijas/ 1×10^6 šūnām un 1509,71 HHV-7 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS. 6 pacientiem (17,14%) HHV-7 infekcija vispār netika konstatēta.

Savukārt kontroles grupas VA apakšgrupas pacientiem ($n = 16$) pirms operācijas latentā / persistējoša HHV-7 infekcija tika atrasta 3 (18,57%) gadījumos ar vīrusa slodzi < 10 HHV-7 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS. Aktīva HHV-7 infekcija nevienam pacientam netika konstatēta. 13 (81,25%) kontroles grupas VA apakšgrupas pacientiem HHV-7 infekcija vispār netika konstatēta.

HHV-7 infekcijas sastopamība pirms operācijas pētījuma un kontroles grupu VA apakšgrupās parādīta 3.7. attēlā.

3.7. attēls. **HHV-7 infekcijas sastopamība pirms operācijas pētījuma un kontroles grupu VA apakšgrupās**

Pētījuma grupas AR apakšgrupā (n = 23) pirms operācijas latentā / persistējošā HHV-7 infekcija tika konstatēta 16 (69,75%) pacientiem, aktīva – 4 (17,39%) pacientiem, bet 3 (13,04%) pacientiem HHV-7 infekcija vispār netika konstatēta. Nosakot vīrusa slodzi ar reālā laika PQR, pirms operācijas tika konstatēts, ka 20 pacientiem, kuriem bija latentā / persistējošā vai aktīva HHV-7 infekcija, vīrusu slodze bija < 10 HHV-7 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS.

Kontroles grupas AR apakšgrupā (n = 15) pirms operācijas latentā / persistējošā HHV-7 infekcija tika konstatēta 2 (13,33%) pacientiem. Nosakot vīrusa slodzi ar reālā laika PQR, pirms operācijas tika konstatēts, ka 2 pacientiem, kuriem bija latentā / persistējošā vai aktīva HHV-7 infekcija, vīrusu slodze bija < 10 HHV-7 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-6 kopijas/ $1 \times \mu\text{g}$ DNS. Aktīva HHV-7 infekcija nevienam no pārējiem VA apakšgrupas 13 (86,67%) pacientiem vispār netika konstatēta. HHV-7 infekcijas sastopamība pirms operācijas pētījuma un kontroles grupu AR apakšgrupās parādīta 3.8. attēlā.

3.8. attēls. HHV-7 infekcijas sastopamība pirms operācijas pētījuma un kontroles grupu RA apakšgrupās

Savstarpēji salīdzinot aktīvas un latentas / persistējošas HHV-7 infekcijas biežumu pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās pirms operācijas, netika konstatēts statistiski nozīmīgas atšķirības ($p > 0,05$).

Savstarpēji salīdzinot latentas / persistējošas HHV-7 infekcijas biežumu kontroles grupas VA un RA apakšgrupās pirms operācijas, netika konstatēts statistiski nozīmīgas atšķirības ($p > 0,05$).

Pēc ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas pētījuma grupas VA apakšgrupā 7 pacientiem tika konstatēta latentas / persistējošas HHV-7 infekcijas aktivācija. Salīdzinot aktīvas HHV-7 infekcijas sastopamību pirms un pēc operācijas, pēc operācijas tika konstatēts statistiski nozīmīgs ($p = 0,01$) aktīvas HHV-7 infekcijas sastopamības pieaugums. Vienam pacientam, kuram pirms pēc operācijas bija latentā/persistējoša HHV-7 infekcija, vīrusa slodze pieauga no < 10 HHV-7 kopijas/ 1×10^6 šūnām un < 10 HHV-7 kopijas/ $1 \times \mu\text{g DNS}$ uz 10981,46 kopijas/ 1×10^6 šūnām un 1663,85 HHV-7 kopijas/ $1 \times \mu\text{g DNS}$.

Pēc īslaicīgas operācijas nevienam kontroles grupas VA apakšgrupas pacientam latentas/persistējošas HHV-7 infekcijas aktivācija netika konstatēta. Vīrusa slodze pēc operācijas nemainījās. HHV-7 infekcijas sastopamība pētījuma un kontroles grupu VA apakšgrupās pēc operācijas parādīta 3.9. attēlā.

3.9. attēls. **HHV-7 infekcijas sastopamība pēc operācijas pētījuma un kontroles grupu VA apakšgrupās**

Pēc ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas pētījuma grupas RA apakšgrupā latentas / persistējošas HHV-7 infekcijas aktivācija tika konstatēta vienam pacientam. Salīdzinot aktīvas HHV-7 infekcijas sastopamību pētījuma grupas RA apakšgrupā pirms un pēc operācijas, pēc operācijas tika konstatēts statistiski nenožīmīgs ($p = 0,28$) aktīvas HHV-7 infekcijas sastopamības pieaugums.

Pēc īslaicīgas operācijas nevienam kontroles grupas RA apakšgrupas pacientam latentas / persistentas HHV-7 infekcijas aktivācija netika konstatēta. HHV-7 infekcijas sastopamība pētījuma un kontroles grupu RA apakšgrupās pēc operācijas parādīta 3.10. attēlā.

3.10. attēls. HHV-7 infekcijas sastopamība pēc operācijas pētījuma un kontroles grupu RA apakšgrupās

3.3. Ķirurģiskās operācijas un anestēzijas ietekme uz imūno šūnu skaita izmaiņām

Savstarpēji salīdzinot vidējo kopējo limfocītu, CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ šūnu skaitu un imūnregulatoros indeksus (CD4+/CD8+) starp pētījuma grupas VA un RA apakšgrupām pirms ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas, tika konstatēts, ka neviens no šiem parametriem savā starpā statistiski ticami neatšķiras ($p > 0,05$) (sk. 3.1. tab.).

3.1. tabula

Imūnsistēmas šūnu skaits pētījuma grupā pirms operācijas

Apakšgrupa	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
VA	1786,97 ±558,45	800,58 ±265,57	507,39 ±219,07	240,94 ±16,22	591,33 ±218,72	1,74 ±0,71
RA	1670,00 ±643,62	821,76 ±454,23	430,47 ±214,61	231,90 ±130,23	502,19 ±185,79	2,08 ±0,94

Arī kontroles grupā pirms operācijas, savstarpēji salīdzinot vidējo kopējo limfocītu, CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ šūnu skaitu un imūnregulatoros indeksus (CD4+/CD8+) VA un RA apakšgrupās, tika konstatēts, ka šie parametri statistiski ticami neatšķiras ($p > 0,05$) (sk. 3.2. tab.).

Imūnsistēmas šūnu skaits kontroles grupā pirms operācijas

Apakšgrupa	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
VA	2563,10 ±844,93	1187,3 ±437,25	680,25 ±228,22	408,75 ±238,22	732,56 ±272,19	1,86 ±0,70
RA	2650,20 ±835,02	1186,40 ±420,06	761,60 ±381,19	294,20 ±122,51	750,40 ±314,07	1,73 ±0,55

Pirms operācijas savstarpēji salīdzinot pētījuma un kontroles grupu VA apakšgrupu pacientu vidējo kopējo limfocītu, CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ šūnu skaitu un imūnregulatoros indeksus (CD4+/CD8+), statistiski ticamas atšķirības netika konstatētas ($p > 0,05$) (sk. 3.3. tab.).

Imūnsistēmas šūnu skaits pētījuma un kontroles grupās pirms operācijas VA pacientiem

Grupa	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
Pētījuma	1786,97 ±558,45	800,58 ±265,57	507,39 ±219,07	240,94 ±156,22	591,33 ±218,72	1,74 ±0,71
Kontroles	2563,10 ±844,93	1187,3 ±437,25	680,25 ±228,22	408,75 ±238,22	732,56 ±272,19	1,86 ±0,70

Pirms operācijas savstarpēji salīdzinot pētījuma un kontroles grupu RA apakšgrupu pacientu vidējo kopējo limfocītu, CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ pozitīvo šūnu skaitu un imūnregulatoros indeksus (CD4+/CD8+), statistiski ticamas atšķirības netika konstatētas ($p > 0,05$) (sk. 3.4. tab.).

Imūnsistēmas šūnu skaits pētījuma un kontroles grupās pirms operācijas RA pacientiem

Grupa	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
Pētījuma	1670,00 ±643,62	821,76 ±454,23	430,47 ±214,61	231,9 ±130,23	502,19 ±185,79	2,08 ±0,94
Kontroles	2650,20 ±835,02	1186,40 ±420,06	761,60 ±381,19	294,20 ±122,51	750,40 ±314,07	1,73 ±0,55

Iegūtie rezultāti ļauj apgalvot, ka visi pētījumā iesaistītie pacienti pēc pētāmajiem parametriem pirms operācijas neatšķīrās.

Salīdzinot vidējo kopējo limfocītu, CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ šūnu skaitu un imūnregulatoros indeksus (CD4+/CD8+) pētījuma grupas VA apakšgrupā pirms un pēc mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas, tika konstatēts, ka pēc operācijas samazinājās kopējais limfocītu skaits, CD8+ šūnu skaits un pieauga imūnregulatorais indekss (CD4+/CD8+).

Balstoties uz atkarīgo izlašu t testu, secināts, ka iepriekšminētās izmaiņas ir statistiski ticamas ($p = 0,049$, $p = 0,03$, $p = 0,005$) (sk. 3.5. tab.).

3.5. tabula

Imūnsistēmas šūnu skaits pētījuma grupas pacientiem, kuri saņēma vispārējo anestēziju

Laiks	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
Pirms operācijas	1786,97 ±558,45	800,58 ±265,57	507,39 ±219,07	240,94 ±156,22	591,33 ±218,72	1,75 ±0,72
Pēc operācijas	1676,67 ±569,87	777,79 ±294,47	460,18 ±235,84	219,30 ±119,94	602,12 ±241,13	2,01 ±0,95

Salīdzinot vidējo kopējo limfocītu, CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ šūnu skaitu un imūnregulatoro indeksu (CD4+/CD8+) pētījuma grupas RA apakšgrupā pirms un pēc ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas, tika konstatēts, ka pēc operācijas pieauga CD38+ šūnu skaits. Balstoties uz atkarīgo izlašu t testu, secināts, ka iepriekšminētās izmaiņas ir statistiski ticamas ($p = 0,017$) (sk. 3.6. tab.).

3.6. tabula

Imūnsistēmas šūnu skaits pētījuma grupas pacientiem, kuri saņēma reģionālo anestēziju

Laiks	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
Pirms operācijas	1670,00 ±643,62	821,76 ±454,42	430,48 ±214,61	231,90 ±130,23	502,19 ±185,79	1,86 ±0,10
Pēc operācijas	1687,14 ±475,82	801,95 ±236,92	414,86 ±156,26	264,10 ±181,94	624,81 ±187,60	2,01 ±0,95

Kontroles grupā neatkarīgi no izvēlētās anestēzijas metodes tika konstatēts, ka pēc īslaicīgas operācijas kopējā limfocītu un CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ šūnu skaitā un imūnregulatorajā indeksā (CD4+/CD8+) novērotās izmaiņas nav statistiski ticamas (sk. 3.7 un 3.8. tab.).

3.7. tabula

Imūnsistēmas šūnu skaits kontroles grupas pacientiem, kuri saņēma vispārējo anestēziju

Laiks	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
Pirms operācijas	2563,10 ±844,93	1187,37 ±437,25	680,25 ±228,22	408,75 ±238,22	732,56 ±272,19	1,86 ±0,70
Pēc operācijas	2688,84 ±947,31	1218,88 ±540,88	723,31 ±267,33	395,25 ±170,20	728,63 ±271,33	1,76 ±0,58

Imūnsistēmas šūnu skaits kontroles grupas pacientiem, kuri saņēma reģionālo anestēziju

Laiks	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
Pirms operācijas	2650,20 ± 835,02	1186,40 ± 420,06	761,60 ± 381,19	294,20 ± 122,51	750,40 ± 314,07	1,73 ± 0,55
Pēcoperācijas	2721,70 ± 889,16	1189,00 ± 424,47	836,80 ± 471,00	330,93 ± 138,02	691,66 ± 221,17	1,69 ± 0,68

3.4. Imūno šūnu skaita izmaiņas saistībā ar HHV-6 un HHV-7 infekciju

Imūno šūnu skaita izmaiņas saistībā ar HHV-6 un HHV-7 infekciju tika pētītas, nesadalot pacientus pa anestēzijas grupām, un izmantots tika neparametriskais Manna–Vitnija tests.

Salīdzinot vidējo kopējo limfocītu, CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ šūnu skaitu un imūnregulatoros indeksus (CD4+/CD8+) pētījuma grupas pacientiem, kuriem pirms operācijas bija aktīva HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija un pacientiem ar latentu / persistējošu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju, netika konstatētas nekādas statistiski ticamas atšķirības ($p > 0,05$) (sk. 3.9. tab.).

Imūnsistēmas šūnu skaits latentas / persistējošas un aktīvas HHV-6/HHV-7 infekcijas pacientiem pirms operācijas

Pacienti	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
Aktīva infekcija pirms operācijas (n = 11)	1490 (1280–2060)	838 (678–948)	412 (320–515)	185 (133–216)	492 (453–741)	1,84 (1,33–2,58)
Latenta/persistējoša infekcija pirms operācijas (n = 32)	1860 (1605–2053)	873,5 (648,5–1002)	488 (393–609)	228 (160–340)	581 (397–657)	1,82 (1,41–2,39)

Salīdzinot vidējo kopējo limfocītu, CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ šūnu skaitu un imūnregulatoros indeksus (CD4+/CD8+) pētījuma grupas pacientiem, kuriem pēc operācijas bija aktīva HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija, un kuriem pēc operācijas bija latentā / persistējoša HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija, netika konstatētas nekādas statistiski ticamas atšķirības ($p > 0,05$) (sk. 3.10. tab.).

**Imūnsistēmas šūnu skaits latentas / persistējošas un aktīvas
HHV-6/HHV-7 infekcijas pacientiem pēc operācijas**

Pacienti	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
Aktīva infekcija pēc operācijas (n = 9)	1500 (970–2060)	742 (396–948)	355 (285–602)	165 (93–408)	554 (310–763)	1,53 (1,35–3,7)
Latenta/persistējoša infekcija pēc operācijas (n = 23)	1660 (1315–2120)	747 (617–966,5)	377 (320–770)	232 (150,5–374,5)	595 (478,5–742,0)	1,7 (1,54–2,49)

Salīdzinot vidējo kopējo limfocītu, CD4+, CD8+, CD16+, CD38+ šūnu skaitu un imūnregulatoros indeksus (CD4+/CD8+) pirms un pēc operācijas pētījuma grupas pacientiem, kuriem pēc operācijas tika konstatēta latentas / persistējošas HHV-6 un /vai HHV-7 infekcijas aktivācija, tika konstatēts, ka neviens no pētāmajiem parametriem statistiski ticami neizmainījās ($p > 0,05$) (sk. 3.11. tab.).

**Imūnsistēmas šūnu skaits pacientiem, kuriem notika latentas / persistējošas
HHV-6 / HHV-7 infekcijas aktivācija pēc operācijas**

Pacienti	Limfocīti	CD4+	CD8+	CD16+	CD38+	CD4/CD8
Latenta/persistējoša infekcija pirms operācijas (n = 9)	1470 (1270–1950)	630 (588–975)	459 (338–505)	147 (135–215)	405 (368–662)	1,38 (1,32–1,96)
Aktīva infekcija pēc operācijas (n = 9)	1544 (970–2060)	742 (396–948)	335 (285–602)	165 (93–408)	554 (310–763)	1,53 (1,35–3,76)

3.5. Ķirurģiskās operācijas un anestēzijas ietekme uz IL-1 β , IL-2, IL-6 un TNF- α koncentrāciju

Ķirurģiskās operācijas ietekme uz IL-1 β , IL-2, IL-6 un TNF- α koncentrāciju tika pētīta, nesadalot pacientus pa anestēzijas grupām un izmantojot neparametrisko Manna–Vitnija testu.

Salīdzinot vidējo IL-1 β , IL-2, IL-6 un TNF- α koncentrāciju pirms un pēc operācijas pētījuma grupas pacientiem, kuriem pirms un pēc operācijas bija latentas / persistējošas HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija, statistiski ticamas atšķirības citokīnu koncentrācijā netika konstatētas ($p > 0,05$) (sk. 3.12. tab.).

IL-1, IL-2, IL-6 un TNF- α tiem pacientiem, kuriem bija latentā / persistējošā HHV-6/HHV-7 infekcija pirms un pēc operācijas

Pacienti	IL-1 β (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
Latenta / persistējošā infekcija pirms operācijas (n = 18)	< 0,3	193,6 $\pm$ 20,2	12,1 $\pm$ 11,3	< 5
Latenta / persistējošā infekcija pēc operācijas (n = 18)	< 0,3	184,4 $\pm$ 17,5	10,9 $\pm$ 8	< 5

Salīdzinot vidējo IL-1 β , IL-2, IL-6 un TNF- α koncentrāciju pirms un pēc operācijas pētījuma grupas pacientiem, kuriem pirms un pēc operācijas bija aktīva HHV-6 un / vai HHV-7 infekcija, statistiski ticamas atšķirības citokīnu koncentrācijā netika konstatētas ($p > 0,05$) (sk. 3.13. tab.).

IL-1, IL-2, IL-6 un TNF- α tiem pacientiem, kuriem bija aktīva HHV-6/HHV-7 infekcija pirms un pēc operācijas

Pacienti	IL-1 β (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
Aktīva infekcija pirms operācijas (n = 9)	< 0,3	187 $\pm$ 11,9	5,3 $\pm$ 4,5	< 5
Aktīva infekcija pēc operācijas (n = 9)	< 0,3	195 $\pm$ 16,1	6,8 $\pm$ 5,6	< 5

Turpretim pētījuma grupas pacientiem, kuriem pēc operācijas konstatēja HHV-6 un / vai HHV-7 infekcijas aktivāciju, pēc operācijas tika konstatēts statistiski ticams IL-2 koncentrācijas samazinājums ($p = 0,0003$). Citi parametri statistiski ticami neizmainījās ($p > 0,05$) (sk. 3.14. tab.).

IL-1, IL-2, IL-6 un TNF- α pacientiem, kuriem notika HHV-6/HHV-7 infekcijas aktivācija pēc operācijas

Pacienti	IL-1 β (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
Latenta/persistējošā infekcija pirms operācijas (n = 6)	< 0,3	213 $\pm$ 12,6	9,4 $\pm$ 5,1	< 5
Aktīva infekcija pēc operācijas (n = 6)	< 0,3	191 $\pm$ 14	10 $\pm$ 7,4	< 5

3.6. HHV-6 un HHV-7 infekcijas iespējamā saistība ar ķirurģisko iznākumu

Salīdzinot ķirurģisko iznākumu (lēvera išēmija, infekciozas komplikācijas, primāra sadzīšana) pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās, tika konstatēts, ka VA apakšgrupā lēvera išēmija bija 3 (8,75%) pacientiem, infekciozas komplikācijas – 10 (28,57%) pacientiem, bet 22 (62,86%) pacientiem brūce sadzija bez sarežģījumiem.

RA apakšgrupā lēvera išēmija tika konstatēta 5 (21,74%) pacientiem, infekciozas komplikācijas – 3 (13,04%) pacientiem, bet 15 (62,22%) pacientiem brūce sadzija bez sarežģījumiem.

Salīdzinot komplikāciju biežumu starp pētījuma grupas VA un RA apakšgrupām, neatkarīgo izlašu t tests norādīja, ka komplikāciju biežums (lēvera išēmija, infekciozās komplikācijas) starp VA un RA apakšgrupām statistiski ticami neatšķiras ($p = 0,20$).

Ķirurģiskais iznākums pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās redzams 3.11. attēlā.

3.11. attēls. Ķirurģiskais iznākums pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās

Pēcoperācijas perioda ilgums pētījuma grupas VA apakšgrupā bija 30,14 ($\pm 27,72$) dienas, RA apakšgrupā 14,52 ($\pm 10,55$) dienas. Savstarpēji salīdzinot pēcoperācijas perioda ilgumu starp pētījuma grupas VA un RA apakšgrupām, balstoties uz neatkarīgo izlašu t testu, secināts, ka pēcoperācijas ilgums VA grupā ir statistiski ticami ilgāks nekā RA grupā ($p < 0,01$). Pēcoperācijas perioda ilguma salīdzinājums pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās parādīts 3.12. attēlā.

3.12. attēls. Pēcoperācijas perioda ilgumu salīdzinājums

21 (60,00%) pētījuma grupas VA apakšgrupas pacients pēcoperācijas periodā tika ārstēts intensīvās terapijas nodaļā, savukārt pētījuma grupas RA apakšgrupā tikai 3 (13,04%) pacientiem bija nepieciešamība ārstēties intensīvās terapijas nodaļā. Atšķirības ir statistiski ticamas ($p = 0,001$). Intensīvās terapijas nodaļā ārstēto pacientu skaits pētījuma grupas VA un RA apakšgrupās parādīts 3.13. attēlā.

3.13. attēls. Intensīvās terapijas nodaļā ārstēto pacientu skaits pētījuma grupā

Vidējais ārstēšanās ilgums intensīvās terapijas nodaļā pēcoperācijas periodā pētījuma grupas VA apakšgrupas pacientiem bija $6,76 (\pm 10,83)$ dienas, savukārt RA apakšgrupā – $2 (\pm 1,00)$ dienas. Atšķirības nav statistiski ticamas ($p = 0,46$). Vidējais ārstēšanās ilgums intensīvās terapijas nodaļā pēcoperācijas periodā pētījuma grupas pacientiem parādīts 3.14. attēlā.

3.14. attēls. Intensīvās terapijas nodaļā ārstēto pacientu skaits pētījuma grupā

Visiem pētījuma grupas pacientiem neatkarīgi no izmantotās anestēzijas metodes tika izvērtēta gan latentas / persistējošas, gan aktīvas HHV-6 un HHV-7 infekcijas saistība ar pēcoperācijas ķirurģisko komplikāciju biežumu: lēvera išēmiju, trombozi, daļēju vai lokālu nekrozi un brūces infekciju.

Lai gan, izmantojot Pīrsona χ^2 testu, tika konstatēts, ka ne latentā / persistējošā, ne aktīva HHV-6/HHV-7 infekcija pacientiem pēcoperācijas periodā ķirurģisko komplikāciju biežumu statistiski ticami neietekmē ($p = 0,36$), taču bija novērota sekojoša tendence: tiem pacientiem, kuriem pēc operācijas HHV-6/HHV-7 infekcija bija aktivējusies, komplikācijas konstatēja 1,77 reizes biežāk nekā tiem pacientiem, kuriem HHV-6/HHV-7 infekcija bija palikusi latentā / persistentā stadijā (OR = 1,77; 95% TI 0,50–6,2).

HHV-6/HHV-7 infekcijas saistība ar ķirurģisko komplikāciju biežumu pēcoperācijas periodā parādīta 3.15. attēlā.

3.15. attēls. **HHV-6/HHV-7 infekcijas saistība ar pēcoperācijas komplikācijām**

Visiem pētījuma grupas pacientiem neatkarīgi no izmantotās anestēzijas metodes tika izvērtēta gan latentas / persistējošas, gan aktīvas HHV-6 un HHV-7 infekcijas saistība tieši ar brūces infekcijas biežumu pēcoperācijas periodā.

Izmantojot Pīrsona χ^2 testu, tika konstatēts, ka ne latentas / persistējošas, ne aktīvas HHV-6/HHV-7 infekcijas klātbūtne brūces infekciju biežumu pēcoperācijas periodā statistiski ticami neietekmē ($p = 0,37$), taču bija novērota sekojoša tendence: tiem pacientiem, kuriem pēc operācijas HHV-6/HHV-7 infekcija bija aktivizējusies, pēcoperācijas infekciozās komplikācijas konstatēja 1,78 reizes biežāk nekā tiem pacientiem, kuriem HHV-6/HHV-7 infekcija bija palikusi latentā / persistentā stadijā (OR = 1,78; 95% TI 0,49–6,48).

HHV-6/HHV-7 infekcijas saistība ar brūces infekciju pēcoperācijas periodā parādīta 3.16. attēlā.

HHV-6/HHV-7 infekcija pēc operācijas

3.16. attēls. HHV-6/HHV-7 infekcijas saistība ar brūces infekciju

Lai gan statistiski ticamas saistības starp HHV-6 un HHV-7 infekcijas statusu, ķirurģiskās infekcijas attīstību un pēcoperācijas perioda norisi konstatēt neizdevās, sīkāk analizējot tos 13 pacientus, kuriem jau pirms operācijas bija konstatēta aktīva HHV-6 vai HHV-7 infekcija, izdevās novērot sekojošu tendenci: 7 pacientiem bija hroniski noritošs osteomielīts pirms operācijas. Tas ir biežāk nekā kopējā pacientu grupā.

Visiem pētījuma grupas pacientiem neatkarīgi no izmantotās anestēzijas metodes tika izvērtēta gan latentas / persistējošas, gan aktīvas HHV-6 un HHV-7 infekcijas saistība ar pēcoperācijas perioda ilgumu.

Izmantojot neatkarīgo izlašu t testu, tika konstatēts, ka ne latentas / persistējošas, ne aktīvas HHV-6/HHV-7 infekcijas klātbūtne pēcoperācijas perioda ilgumu neietekmē, jo atšķirības nebija statistiski ticamas ($p = 0,36$). Taču tika novērota sekojoša tendence: tiem pacientiem, kuriem pēc operācijas bija konstatēta HHV-6/HHV-7 infekcijas aktivācija, pēcoperācijas periods bija garāks ($M = 25,57 \pm 22,96$) nekā tiem pacientiem, kuriem HHV-6/HHV-7 infekcija bija latentā / persistentā stadijā ($21,12 \pm 12,40$).

HHV-6/HHV-7 infekcijas saistība ar pēcoperācijas perioda ilgumu parādīta 3.17. attēlā.

3.17. attēls. **HHV-6/HHV-7 infekcijas saistība ar pēcoperācijas perioda ilgumu**

Visiem pētījuma grupas pacientiem neatkarīgi no izmantotās anestēzijas metodes pirms operācijas tika izvērtēta vispārējā veselības stāvokļa jeb ASA pakāpes iespējamā saistība ar HHV-6/HHV-7 infekcijas statusu (latenta / persistējoša HHV6/HHV-7 infekcija, aktīva HHV-6/HHV-7 infekcija).

Balstoties uz neatkarīgo izlašu t testu, tika secināts, ka vispārējais veselības stāvoklis (ASA pakāpe) pirms operācijas nav statistiski ticami saistīts ar to, vai pacientiem pirms operācijas ir latentā/persistenta vai aktīva HHV-6/HHV-7 infekcija ($p = 0,93$).

HHV-6/HHV-7 infekcijas statusa saistība ar ASA pakāpi pirms operācijas parādīta 3.18. attēlā.

HHV-6/HHV-7 infekcija pirms operācijas

3.18. attēls. **HHV-6/HHV-7 infekcijas statusa saistība ar ASA pakāpi pirms operācijas**

Visiem pētījuma grupas pacientiem neatkarīgi no izmantotās anestēzijas metodes pēc operācijas tika izvērtēta vispārējā veselības stāvokļa jeb ASA pakāpes iespējamā saistība ar HHV-6/HHV-7 infekcijas statusu (latenta / persistējoša HHV6/HHV7 infekcija, aktīva HHV-6/HHV-7 infekcija).

Balstoties uz neatkarīgo izlašu t testu, tika secināts, ka vispārējais veselības stāvoklis pirms operācijas nav statistiski ticami saistīts ar to, vai pacientiem pēc operācijas ir latenta / persistenta vai aktīva HHV-6/HHV-7 infekcija ($p = 0,87$).

HHV-6/HHV-7 infekcijas statusa saistība ar ASA pakāpi pēc operācijas parādīta 3.19. attēlā.

3.19. attēls. **HHV-6/HHV-7 infekcijas statusa saistība ar ASA pakāpi pēc operācijas**

Kontroles grupā neatkarīgi no pielietotās anestēzijas metodes visi pacienti atstāja stacionāru operācijas dienā. Visiem kontroles grupas pacientiem pēcoperācijas periods noritēja bez komplikācijām.

3.7. Klīniskā gadījuma apskats

Šajā pētījuma daļā iekļauts rets klīniskais gadījums, kad zēnam ar 1. tipa neurofibromatozi (*NFI*) 5 un 6 gadu vecumā tika veiktas divas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas, lai likvidētu labā lielā lielakaula iedzimtu pseidoartrozi.

1. tipa neurofibromatoze ir izplatīta ģenētiska slimība, kas skar ādu, zemādas audus, perifēros nervus un skeletu. 1. tipa neurofibromatozes prevalence ir viens gadījums uz 3000 indivīdiem, un tai raksturīgās klīniskās pazīmes ir *café au lait* plankumi, Liša mezgliņi, *Herpes zoster*, vasaras raibumi padusēs, redzes nerva glioma, perifērā neurofibroma un ortopēdiskas izpausmes, piemēram, skolioze un iedzimta lielā lielakaula pseidoartroze. Retāk ir sastopami intraosāli cistiski bojājumi, skrimšļu proliferācijas un gūžas displāzija.

Zēnam 1. tipa neurofibromatoze tika diagnosticēta 6 mēnešu vecumā. Klīniskās izpausmes bija *café au lait* plankumi un labā lielā lielakaula iedzimta pseidoartroze. Lai likvidētu pseidoartrozi, zēns 5 gadu vecumā tika plānveidā stacionārs Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas stacionārā “Gaiļezers” Plastiskās un mikroķirurģijas centrā, kur viņam tika veikta pirmā mikrovaskulārā operācija (tika izmantotas trīs anastomozes) ar

kontralaterālo mazā lielakaula brīvo lēveri (mazā lielakaula transplantācija). Operācijas ilgums bija sešas stundas. Tika izmantota balansētā vispārējā anestēzija atbilstoši klīnikas standartiem mikrovaskulārām brīvā lēvera operācijām. Izoflurāns bija izvēles medikaments sakarā ar tā labvēlīgo ietekmi uz sistēmisko vaskulāro rezistenci. Epidurālā anestēzija netika izmantota, lai izvairītos no “apzagšanas” fenomena. Operācija un anestēzija noritēja bez komplikācijām.

Pirms un pēc pirmās mikrovaskulārā brīvā lēvera operācijas tika konstatēta aktīva HHV-6 un HHV-7 infekcija, kā arī samazināts NK un CD4+ šūnu skaits, kas liecināja par imūnsupresiju. Desmitajā pēcoperācijas dienā zēns tika izrakstīts no slimnīcas.

Pēc sešiem mēnešiem zēns tika atkārtoti hospitalizēts Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas stacionārā “Gaiļezers” Plastiskās un mikroķirurģijas centrā. Hospitalizācijas iemesls bija nedzīstošas brūces un vairākas fistulas transplantētā lēvera recipienta vietā. Rentgenogrāfiskā izmeklēšana uzrādīja transplantētā mazā lielakaula uzsūkšanos. Zēnam tika veikta osteonekrectomija un brūces apstrāde.

Gadu pēc pirmās mikrovaskulārā brīvā lēvera operācijas, 6 gadu vecumā, zēns tika atkārtoti stacionēts Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas stacionārā “Gaiļezers” plastiskās un mikroķirurģijas centrā. Zēnam tika veikta atkārtota mikrovaskulārā brīvā lēvera operācija ar osteomuskulāru *femur-vastus medialis* lēveri. Operācijas ilgums bija 6,5 stundas. Izmantota tika vispārējā anestēzija atbilstoši klīnikas standartiem. Medikamentu izvēle bija identiska kā iepriekšējai mikrovaskulārajai brīvā lēvera operācijai. Operācija un anestēzija noritēja bez komplikācijām.

Pēc operācijas zēns vienu dienu pavadīja intensīvās terapijas nodaļā, lai nodrošinātu optimālu šķidrumu terapiju, atsāpinašānu un nodrošinātu nepārtrauktu transplantētā lēvera klīnisko novērošanu.

Astotajā pēcoperācijas dienā attīstījās pārstādītā lēvera tromboze. Sakarā ar pārstādītā lēvera trombozi desmitajā pēcoperācijas dienā tika veikta transplantētā lēvera muskulārās daļas daļēja rezekcija, saglabājot transplantētā kaula daļu. Defekts tika piesegts ar lokālu lēveri. Osteomielīta pazīmes netika novērotas. Rentgenoloģiskā izmeklēšanā tika konstatēta kaulu audu konsolidācija. Transplantētais lēveris izdzīvoja. Šajā gadījumā gan pirms, gan pēc operācijas tika konstatēta latentā / persistējoša HHV-6 un HHV-7 infekcija un samazināts NK šūnu skaits. Zēns tika izrakstīts no slimnīcas 24. dienā pēc operācijas.

Minētais gadījums uzskatāmi parāda iespējamu aktīvas HHV-6 un HHV-7 infekcijas izraisītas imūnmodulācijas ietekmi uz ārstēšanas rezultātiem.

4. DISKUSIJA

Beta-herpesvīrusu HHV-6 un HHV-7 infekcija pieaugušo populācijā ir plaši izplatīta visā pasaulē. Mūsdienās ir daudz pētījumu, kuros mēģināts atrast un novērtēt šo vīrusu infekcijas nozīmi dažāda veida hronisku slimību etioloģijā un patoģenēzē, tomēr galīgā atbilde uz šo jautājumu vēl nav atrasta. Daudz pētījumu ir veikti par iespējamu HHV-6 un/vai HHV-7 nozīmi pacientiem ar transplantācijām. Tas varētu būt saistīts gan ar to, ka šie vīrusi pēc primārās infekcijas saglabājas persistentas infekcijas veidā visā dzīves garumā un var aktivēties dažādu imūnsupresējošu faktoru ietekmē, gan ar to, ka šiem vīrusiem pašiem piemīt imūnmodulatoras spējas, gan arī ar to, ka mijiedarbības mehānismi ar organismu ir dažādi. HHV-6 un HHV-7 infekcijas ietekme organismā var būt gan tieša, gan netieša. Šie vīrusi inficē šūnas, kuras ir tieši iesaistītas šūnu un humorālās imūnās atbildes reakcijas veidošanā. Tajā pašā laikā šie vīrusi var mainīt šūnas virsmas receptoru ekspresiju, kā arī iekaisumu veicinošo jeb proinflammatoro citokīnu (IL-12, IL-1β, IL-6, TNF-α, IFN-γ) un hemokīnu ekspresijas līmeni, tādā veidā veicinot lokālo iekaisuma reakciju (Vossen, 2002). Gadījumos, kad ir traucēta imūnās atbildes reakcija, jo īpaši pie dažādas etioloģijas imūnsupresijas, var notikt šo vīrusu reaktivācija. Līdz ar to var apgalvot, ka HHV-6 un HHV-7 reaktivācija noder par imūnsupresijas marķieri.

Jau literatūras apskata sadaļā ir aprakstīts, ka vispārējā anestēzija mazina, bet pilnībā neizslēdz ķirurģisko stresu. Paralēli tam vispārējā anestēzija ietekmē imūno šūnu skaitu un funkciju. Pētot literatūras avotus, ir konstatēts, ka mūsdienās pētījumi par dažādu anestēzijas metožu ietekmi uz imūno funkciju tiek veikti pacientiem ar onkoloģiskām saslimšanām, lai pēc iespējas reducētu audzēju recidīvu attīstību. Līdz šī pētījuma uzsākšanai literatūras datu bāzēs netika atrasts neviens pētījums par ķirurģisko operāciju un dažādu anestēzijas metožu ietekmi uz HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivāciju un to, kā šī infekcija varētu ietekmēt pēcoperācijas perioda norisi un ķirurģijas rezultātu.

Šajā pētījumā kā imūnsupresijas indikators kalpoja HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivācija, kas notiek imūnsupresijas gadījumā. Paralēli tika noteikts šūnu imunitāti atspoguļojošo šūnu (limfocītu un to subpopulāciju – CD4+, CD8+, CD38+, CD16+ šūnu) skaita izmaiņas pēc operācijas, izmantojot dažādas anestēzijas metodes – vispārējo un reģionālo. Mūsu gadījumā pētāmais pacientu kolektīvs bija kardināli atšķirīgs, jo pētījumā iekļautie pacienti bija praktiski veseli cilvēki, kuriem nebija nekādu nopietnu blakusslimību, un pacientu stāvoklis pēc traumas bija pilnībā stabilizēts. Tā rezultātā mēs varam apgalvot, ka šis ir pirmais pētījums, kurā HHV-6 un/vai HHV-7 infekcijas aktivācija tika pētīta veseliem pacientiem, bet kā imūnsupresējoši faktori bija dažādas anestēzijas metodes, operācijas

ilgums un apjoms. Šajā pētījumā priekšplānā izvirzās nevis HHV-6 vai HHV-7 loma kādas slimības etioloģijā un patogēnēzē, bet tas, kā atšķirīgas anestēzijas metodes un operācijas ilgums vai plašums nomāc imūno funkciju, radot HHV-6 un/vai HHV-7 infekcijas aktivāciju, un kā HHV-6 un/vai HHV-7 radītā imūnmodulācija ietekmē pēcoperācijas perioda norisi, galvenokārt septisko komplikāciju attīstību.

Pētījumā pēc ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas pētījuma grupas VA apakšgrupā 7 pacientiem tika konstatēta latentas / persistējošas HHV-7 infekcijas aktivācija. Salīdzinot aktīvas HHV-7 infekcijas sastopamību pirms un pēc operācijas, pēc operācijas tika konstatēts statistiski nozīmīgs ($p < 0,05$) aktīvas HHV-7 infekcijas sastopamības pieaugums. Tas apstiprina to, ka VA pilnībā nenovērš ķirurģiskā stresa reakciju, tādā veidā pastiprinot pēcoperācijas imūndepresiju. Paralēli šai atradnei tika konstatēts, ka pēc ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas VA apakšgrupā īpaši tika ietekmēts šūnu imunitātes efektorais posms, kas izpaudās ar statistiski ticamu CD8+ šūnu skaita samazināšanos un attiecīgu imūnregulatorā indeksa (CD4+/CD8+) pieaugumu. Tas netika konstatēts pacientiem, kuri tika ilgstoši operēti, izmantojot reģionālās anestēzijas metodi.

Turpretī RA apakšgrupā pēc operācijas pieauga CD38+ šūnu skaits, kas liecina par aktīvu imūnās atbildes reakciju. Meklējot atbildi, vai latentai / persistējošai un aktīvai HHV-6 un HHV-7 infekcijai ir saistība ar pēcoperācijas ķirurģisko komplikāciju biežumu – lēvera išēmiju, trombozi, daļēju vai lokālu lēvera nekrozi un brūces infekciju, tika konstatēts, ka ne latentā / persistējoša, ne aktīva HHV-6/HHV-7 infekcija pacientiem ķirurģisko komplikāciju biežumu pēcoperācijas periodā statistiski ticami neietekmē. Tika novērots, ka HHV-6 un HHV-7 infekciju aktivācija ir izteiktāka pacientiem, kuriem tika veikta ilgstoša mikrovaskulārā brīvā lēvera operācija, izmantojot vispārējās anestēzijas metodi. Iegūtie dati sakrīt ar iepriekšējiem pētījumiem, kas liecina, ka vispārējās anestēzijas metode pilnībā nenovērš ķirurģiskā stresa reakciju, tādā veidā radot pēcoperācijas imūnsupresiju (*Stevenson, 1990*).

Lai gan statistiski ticamas saistības starp HHV-6 un HHV-7 infekcijas statusu, ķirurģiskās infekcijas attīstību un pēcoperācijas perioda norisi konstatēt neizdevās, sīkāk analizējot to 13 pacientu anamnēzi, kuriem jau pirms operācijas bija konstatēta aktīva HHV-6 vai HHV-7 infekcija, izdevās izdarīt šādu novērojumu: 7 no viņiem bija hroniski noritošs osteomielīts pirms operācijas. Tas ir būtiski vairāk nekā kopējā pacientu grupā un liecina par imūnās funkcijas nomākumu, un tam ir iespējama saistība ar aktīvu HHV-6 vai HHV-7 infekciju.

Interesanta sakritība bija novērojama arī mūsu publicētajā klīniskā gadījuma aprakstā bērnam ar pirmā tipa neurofibromatozi un lielā lielakaula pseidoartrozi, kas izveidojusies

neveiksmīgas apakšējās ekstremitātes deformāciju korigējošas operācijas rezultātā (Vilks, 2014). Pseudoartrozes likvidēšanai tika veikta rekonstruktīvā operācija ar kontrlaterālu mazā lielakaula lēveri. Šajā klīniskajā gadījumā tika konstatēts, ka pirmā rekonstruktīvā operācija 5 gadu vecumā bija neveiksmīga, jo pēc operācijas attīstījās osteomielīts un pārstādītais brīvais lēveris aizgāja bojā. Pirms operācijas un 10. pēcoperācijas dienā paņemtās analīzes uzrādīja aktīvu HHV-6 un HHV-7 infekciju, kā arī samazinātu NK un CD4+ šūnu skaitu. Pēc gada tika veikta atkārtota rekonstruktīvā operācija ar osteomuskulāru *femur-vastus medialis* lēveri. Arī šajā gadījumā pirms operācijas un 8. pēcoperācijas dienā tika paņemtas analīzes, lai noteiktu HHV-6 un HHV-7 infekcijas klātbūtni un CD4+, CD8+, CD38+, un CD16+ šūnu skaitu. Gan pirms, gan pēc operācijas tika konstatēta latentā / persistējoša HHV-6 un HHV-7 infekcija un samazināts NK šūnu skaits. Šajā gadījumā operācijas iznākums bija veiksmīgs. Osteomielīta recidīvs netika konstatēts. Tas liek nopietni apsvērt imūnās funkcijas izvērtēšanu perioperatīvajā periodā pacientiem, kuriem ir nepieciešama ilgstoša rekonstruktīvā operācija, īpaši tiem, kuriem laika posmā starp traumu un rekonstruktīvo operāciju ir bijis osteomielīts.

Tas varētu būt izskaidrojams ar to, ka liela apjoma ķirurģiskās operācijas izraisa endokrīno stresa reakciju, kuras raksturīgākās pazīmes ir paaugstināts kortizola, adrenalīna un noradrenalīna līmenis serumā. Turklāt šo ķirurģiskās operācijas izraisīto stresa reakciju bieži pavada limfopēnija un granulocitoze perifērajās asinīs. Perifērās leukocītu izmaiņas ir pierādītas gan pēc operācijas, gan arī pēc kortizola infūzijas. Tam pamatā ir šo limfocītu pārdale no perifērajiem asinīm uz limfātiskajiem audiem. Šajā mehānismā liela loma ir endokrīnā stresa reakcijai (Toft, 2003). Ir pierādīts, ka pēcoperācijas periodā notiek to citokīnu produkcijas nomākums, kas veicina šūnu imunitāti – IL-2, IL-12 un IFN- γ . Savukārt palielinās to citokīnu produkcija, kas nomāc šūnu imunitāti, piemēram, IL-10. Samazinās cirkulējošo NK, T-helperu, citotoksisko T limfocītu un dendrītisko šūnu skaits. Operācijas izraisītais šūnu imunitātes nomākums saglabājas vairākas dienas pēc operācijas. Humorālā imunitāte saglabājas salīdzinoši neskarta (Shakhar, 2003). Tiek uzskatīts, ka imūnsupresijas kulminācija tiek sasniegta 3. dienā pēc operācijas (Coffey, 2003). Iepriekšējie pētījumi liecina, ka vispārējā anestēzija pilnībā nenovērš ķirurģiskā stresa reakciju, tādā veidā pastiprinot pēcoperācijas imūndepresiju (Stevenson, 1990). Ir pierādīts, ka paralēli ķirurģiskā stresa izraisītajai imūnsupresijai anestēzijā un intensīvajā terapijā plaši izmantotie anestēzijas un pretsāpju līdzekļi var tieši ietekmēt imūnsistēmas šūnu funkcijas (Kurosawa, 2008).

Daudz pūļu ir koncentrēts, lai identificētu HHV-6/HHV-7 lomu pacientiem ar novājinātu imunitāti, jo citi herpesvīrusi izraisa būtiskas slimības šajā pacientu grupā. Turklāt tie izraisa ne tikai tiešus patoloģiskos bojājumus, bet iespējams, tie var netieši veicināt citu infekcijas slimību pievienošanos uz nomāktās imūnsistēmas fona (Griffiths, 2003).

T limfocīti (CD3+) ir ļoti svarīgi šūnu imunitātes nodrošinātāji. Tie iedalās subpopulācijās: T helperi (CD4+) producē IFN- γ un IL-2, veicinot šūnu imunitāti, un T citotoksiskie / regulatorie (CD8+), kas savukārt atpazīst un iznīcina audzēju un ar vīrusiem inficētās šūnas. Mūsu pētījumā pacientiem, kuri saņēma VA pie ilgstošām operācijām, konstatēja statistiski ticamu CD8+ šūnu skaita samazināšanos ar sekojošu CD4+/CD8+ skaita pieaugumu, kas skaidri atspoguļo celulārās imūnās funkcijas nomākumu.

Efektīvas imūnreakcijas attīstība pret jebkuru patogēnu ir komplekss pasākums, kas prasa antigēna apstrādi (*processing*), prezentāciju (*presentation*) un atpazīšanu (*recognition*), imūnās sistēmas šūnu aktivizāciju, proliferāciju un citokīnu sekrēciju. Vīrusi var ietekmēt imūnfunkciju dažādos veidos. Piemēram, citomegalovīruss var samazināt IL-1 un IL-2 sekrēciju PBMC, kā arī pasliktināt šo šūnu proliferatīvo atbildi uz mitogēnu. Arī paramiksovīrusi, respiratori sincitiālais un masalu vīruss kavē proliferatīvo atbildi (*Flamand, 1995; Kapasi, 1988; Preston, 1992; Yanagi, 1992*).

Katrs solis imūnajā atbildē ir smalki reglamentēts. Lai antigēna ietekmē notiktu T helperu aktivācija, ir nepieciešami vismaz divi signāli – pirmkārt, iesaistot T-šūnas receptoru (TCR), otrkārt, iesaistot aktivēto proteīnu C (APC). Tā rezultātā notiek IL-2 produkcija un IL-2 receptoru ekspresija. Nākamais posms ir klonālā proliferācija (*Fernandez-Botran, 1986; Takeshita, 1992; Waldman, 1986*).

Traucējumi vienā vai vairākos minētajos mehānismos var ievērojami ietekmēt vispārējo imūnreakciju pret konkrēto antigēnu. Ir pierādīts, ka limfotropais HHV-6 pārtrauc normālu notikumu gaitu imūnās atbildes reakcijā, ietekmējot IL-2 sintēzi un sekojošu T-šūnu proliferāciju. Pētot HHV-6 potenciālo ietekmi uz IL-2 produkciju, ir konstatēts, ka, inkubējot ar HHV-6 ar mitogēnu stimulētas šūnas, būtiski samazinās IL-2 produkcija, turklāt netiek ietekmēta šo šūnu dzīvotspēja. Ir konstatēts, ka HHV-6 ietekmē gan CD4+ un CD8+ T-limfocītu subpopulāciju proliferāciju. Precīzs mehānisms, kā HHV-6 panāk IL-2 produkcijas nomākumu, nav zināms. IL-2 galvenās funkcijas ir stimulēt aktivizēto T un B šūnu proliferāciju, veicinot citotoksisko T limfocītu veidošanos, un izraisīt NK šūnu aktivāciju. HHV-6 var nopietni ietekmēt normālu imūno funkciju un veicināt imūnpatoloģiskus procesus. Situācijā, kad pastāv HHV-6 virēmija ar lielu skaitu virionu asinīs, traucēta imūnā funkcija var veicināt vai izsaukt citu patogēno aģentu izplatību (*Flamand, 1995*).

CD4+ šūnām ir izšķirošā loma imūnās atbildes indukcijā. HHV-7 infekcijai skarot šīs šūnas, iespējams, var notikt imūnās atbildes disregulācija, izmainoties citokīnu produkcijai (*Flamand, 1991, 1995, 1996*).

Ir pierādīts, ka HHV-7 mijiedarbība ar cilvēka PBMC inducē audzēja nekrozes faktora α (TNF- α), γ interferonu (INF- γ), pārveidojošā augšanas faktora β (TGF- β) sintēzi, savukārt IL-2 sintēze tiek nomākta. Tas var tālāk modulēt citokīnu sekrēciju PBMC, tā veicinot tālāku imūnās atbildes disregulāciju, veicinot HHV-7 infekcijas reaktivāciju. Šis HHV-7 papildus radītais imūnsupresīvais efekts var padziļināt imūndeficītu tiem pacientiem, kuriem šī vīrusa infekcija tiek reaktivēta.

Kopumā iegūtie rezultāti liecina, ka HHV-7 infekcija izraisa nozīmīgu imūnmodulējošu ietekmi attiecībā uz citokīnu sintēzi šajās šūnās, kā arī tiek kavēta limfocītu reakcija uz dažādiem stimuliem (*Blanche*, 1999). Ilgstoša operācija un anestēzija ir imūnsistēmu nomācošs faktors, kas noved pie persistētas vīrusu HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivācijas, vīrusiem piemīt imūnmodulējošas īpašības, kas organisma imūnsupresiju padziļina vēl vairāk. Šai imūnsupresijai var sekot dažādu oportūnistisku infekciju vai citu neinfekciozu komplikāciju pievienošanās. Mūsu pētījums apstiprināja, ka vispārējai anestēzijai ir izteiktāka imūnsupresīvā ietekme nekā reģionālajai anestēzijai.

SECINĀJUMI

1. Vispārējās anestēzijas pielietošana ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās ir saistīta ar statistiski ticamu HHV-7 infekcijas aktivāciju.
2. Ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijās izmantojot reģionālo anestēziju, nav konstatēta statistiski ticama saistība ar HHV-6 vai HHV-7 infekcijas aktivāciju.
3. Ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas, kas veiktas, izmantojot vispārējo anestēziju, nomāc šūnu imunitātes efektoro posmu.
4. Ja ilgstošās mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas veiktas, izmantojot reģionālo anestēziju, tiek saglabāta aktīva imūnās atbildes reakcija.
5. Īsas rekonstruktīvās operācijas neatkarīgi no anestēzijas metodes – vispārējās vai reģionālās – nav saistītas ar HHV-6 vai HHV-7 infekcijas aktivāciju un izmaiņām imūnšūnu skaitā.
6. Pēc ilgstošām mikrovaskulārām brīvā lēvera operācijām ne aktīvas, ne latentas / persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas ietekme uz pēcoperācijas perioda norisi un ķirurģisko iznākumu nav statistiski ticama, taču pacientiem ar pēcoperācijas HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivāciju ir tendence biežāk iegūt komplikācijas, kā arī pagarinās pēcoperācijas perioda ilgums.
7. Atsevišķos gadījumos aktīvas HHV-6 un HHV-7 infekcijas nozīme pēcoperācijas perioda norisē un ķirurģiskajā iznākumā ir būtiska, par ko liecina aprakstītais neurofibromatozes klīniskais gadījums.

PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1. Pacientiem, kuriem nepieciešams veikt ilgstošas mikrovaskulārās brīvā lēvera operācijas, ir būtiski izvērtēt operācijas un anestēzijas radītos potenciālos imūnsupresijas riskus un ar tiem saistītās komplikācijas.
2. Būtiski ir izvērtēt imūno funkciju perioperatīvajā periodā pacientiem, kuriem pēc traumas ir bijušas grūti ārstējamas septiskas komplikācijas un ir nepieciešama ilgstoša mikrovaskulārā brīvā lēvera operācija.
3. Lai izvairītos no vispārējās anestēzijas radītā imūnsupresijas riska, situācijās, kad audu defekta primārā lokalizācija un pacienta blakusslimības un to dekompensācijas pakāpe pieļauj reģionālās anestēzijas pielietošanu, tiek rekomendēts kopā ar ķirurgiem apsvērt tādu donora vietas izvēli, kur iespējama RA izmantošana.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Abdel Massih R. C., Razonable R. R. Human herpesvirus 6 infections after livertransplantation // *World J Gastroenterol*, 2009; 15(21): 2561–2569.
2. Ablashi D. V., Lusso P., Hung C. L., et al. Utilization of human hematopoietic cell lines for the propagation and characterization of HBLV (human herpesvirus 6) // *Int J Cancer*, 1988; 42(5): 787–791.
3. Adams J., Charlton P. Anesthesia for microvascular free tissue transfer // *Br J Anaesth (CEPD Reviews)*, 2003; 3: 33–37.
4. Adams O., Krempe C., Kogler G., et al. Congenital infections with human herpesvirus 6 // *J Infect Dis*, 1998; 178: 544–546.
5. Ahlers O., Nachtigall I., Lenze J., et al. Intraoperative thoracic epidural anaesthesia attenuates stress-induced immunosuppression in patients undergoing major abdominal surgery // *Br J Anaesth* 2008; 101 (6): 781–787.
6. Alam N.H., Haeney J.A., Platt A.J. Three episodes of gracilis free muscle transfer under epidural anaesthesia // *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2006; 59: 1463–1466.
7. Alvarez-Lafuente R., Martín-Estefanía C., de Las Heras V., et al. Active human herpesvirus 6 infection in patients with multiple sclerosis // *Arch Neurol*, 2002; 59(6): 929–933.
8. Annecke T., Chappell D., Chen C., et al. Sevoflurane preserves the endothelial glycocalyx against ischaemia-reperfusion injury // *Br J Anaesth*, 2010; 104: 414–421.
9. Annecke T., Rehm M., Bruegger D., et al. Ischemia-reperfusioninduced unmeasured anion generation and glycocalyx shedding: Sevoflurane versus propofol anesthesia // *J Invest Surg*, 2012; 25: 162–168.
10. Arena A., Liberto M.C., Iannello D., et al. Altered cytokine production after human herpes virus type 6 infection // *New Microbiol*, 1999; 22: 293–300.
11. Asano Y, Suga S, Yoshikawa T, et al. Clinical features and viral excretion in an infant with primary human herpesvirus 7 infection // *Pediatrics*, 1995; 95(2): 187–190.
12. Aubin J.T., Poirel L., Agut H., et al. Intrauterine transmission of human herpesvirus 6 // *Lancet* 1992; 340: 482–483.
13. Banic A., Krejci V., Erni D., et al. Effects of extradural anesthesia on microcirculatory blood flow in free latissimus dorsi musculocutaneous flaps in pigs // *Plast Reconstr Surg*, 1997; 100: 945–55.
14. Barrera R., Shi Y., Amar D., Thaler H.T., et al. Smoking and timing of cessation impact on pulmonary complications after thoracotomy // *Chest*, 2005; 127: 1977–1983.
15. Bates M., Monze M., Bima H., et al. Predominant human herpesvirus 6 variant A infant infections in an HIV–1 endemic region of Sub-Saharan Africa // *J Med Virol*, 2009; 81(5): 779–789.
16. Beilin B., Grinevich G., Yardeni I.Z., et al. Tramadol does not impair the phagocytic capacity of human peripheral blood cells // *Can J Anaesth*, 2005; 52(10): 1035–1039.
17. Beilin B., Shavit Y., Cohn S., et al. Narcotic-induced suppression of natural killer cell activity in ventilated and nonventilated rat // *Clin Immunol Immunopathol*, 1992; 64(2): 173–176.
18. Bertuglia S. , Colantuoni A., Coppini G., et al. Hypoxia-orhyperoxia-induced changes in arteriolar vasomotion in skeletal muscle microcirculation // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1991; 260: 362–372.
19. Bessler M., Whelan R.L., Halverson A., et al. Is immune function better preserved after laparoscopic versus open colon resection // *Surg Endosc*, 1994; 8(8): 881–883.
20. Biberfeld P, Kramarsky B, Salahuddin SZ., et al. Ultrastructural characterization of a new human B lymphotropic DNA virus (human herpesvirus 6) isolated from patients with lymphoproliferative disease // *J Natl Cancer Inst*. 1987; 79: 933–941.
21. Bilfinger T.V., Fimiani C., Stefano G.B. Morphine's immunoregulatory actions are not shared by Fentanyl // *Int J Cardiol*, 1998; 64 (Suppl 1): 61–66.
22. Black J. B., Pellett P. E. (1999). Human herpesvirus 7 // *Rev. Med. Virol*, 1999; 9: 245–262.
23. Black J.B., Lopez C., Pellett P.E. Induction of host cell protein synthesis by human herpesvirus 6. *Virus Res*, 1992; 22(1): 13–23.
24. Black J.B., Sanderlin K.C., Goldsmith C.S., et al. Growth properties of human herpesvirus-6 strain Z29 // *J Virol Methods*, 1989; 26: 133–145.

25. Blanche N.A., Jose M., Mario D., et al. Modulatory effects of human herpes virus-7 on cytokine synthesis and cell proliferation in human peripheral blood mononuclear cell cultures // *Journal of Leukocyte Biology*, 1999; 66: 822–828.
26. Bolle L.D., Naesens L., Erik D.C. .Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy // *Clin Microbiol Rev*, 2005; 18(1): 217–245.
27. Booi D.I. Perioperative fluid overload increases anastomosis thrombosis in the free TRAM flap used for breast reconstruction // *Eur J Plast Surg*, 2011; 34: 81–86.
28. Boutolleau D, Fernandez C, Andre E., et al. Human herpesvirus (HHV)-6 and HHV-7: two closely 103 related viruses with different infection profiles in stem cell transplantation recipients // *J Infect Dis*, 2003; 187(2):179–186.
29. Bozkurt M., Kulahci Y., Zor F., et al. Comparison of the effects of inhalation, epidural, spinal, and combined anesthesia techniques on rat cremaster muscle flap microcirculation // *Microsurgery*, 2010; 30: 55–60.
30. Brivio F., Lissoni P., Alderi G., et al. Nonalcoholic steatohepatitis // *Oncology*, 1996; 53(4): 263–268.
31. Brivio F., Lissoni P., Fumagalli L., et al. Pre-operative IL-2 immunoprophylaxis of cancer recurrence: long-term clinical results of a phase II study in radically operable colorectal cancer // *Oncol Rep*, 1999; 6(6): 1205–1207.
32. Brøchner A.C., Mikkelsen S., Hegelund I., et al. The immune response is affected for at least three weeks after extensive surgery for ovarian cancer // *Dan Med J*, 2016; 63(6): A5243.
33. Bruegger D., Bauer A., Finsterer U., et al. Microvascular changes during anesthesia: Sevoflurane compared with propofol // *Acta Anaesthesiol Scand*, 2002; 46: 481–487.
34. Brunda M.J., Luistro L, Warriar R.R., et al. Antitumor and antimetastatic activity of interleukin 12 against murine tumors // *J Exp Med*, 1993; 178(4): 1223–1230.
35. Cabrales P., Intaglietta M. Tsai A.G. Transfusion restores blood viscosity and reinstates microvascular conditions from hemorrhagic shock independent of oxygen carrying capacity // *Resuscitation*, 2007; 75: 124–134.
36. Cabrales P., Tsai A.G. Plasma viscosity regulates systemic and microvascular perfusion during acute extreme anemic conditions // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006; 291: 2445–2452.
37. Cacheux W., Carbonell N., Rosmorduc O., et al. HHV-6-related acute liver failure in two immunocompetent adults: favourable outcome after liver transplantation and/or ganciclovir therapy // *J Intern Med*. 2005; 258(6): 573–578.
38. Cayci C., Cinar C., Yucel O.A., et al. The effect of epidural anesthesia on muscle flap tolerance to venous ischemia // *Plast Reconstr Surg*, 2010;125: 89–98.
39. Cañola D, Karras A., Flandre P., et al. Confirmation of the low clinical effect of human herpesvirus-6 and -7 infections after renal transplantation // *J Med Virol*, 2012; 84(3): 450–456.
40. Caprotti R, Brivio F, Fumagalli L, et al. Free-from-progression period and overall short preoperative immunotherapy with IL-2 increases the survival of pancreatic cancer patients treated with macroscopically radical surgery // *Anticancer Res*, 2008; 28(3B): 1951–1954.
41. Cardinali G., Gentile M., Cirone M., et al. Viral glycoproteins accumulate in newly formed annulate lamellae following infection of lymphoid cells by human herpesvirus 6 // *J. Virol*. 1998; 72: 9738–9746.
42. Carey J.N., Watt A.J., Ho O., et al. Free flap scalp reconstruction in a 91-year-old patient under local-regional anesthesia: Case report and review of the literature // *J Reconstr Microsurg*, 2012; 28: 189–193.
43. Carey P.D., Wakefield C.H., Thayeb A., et al. Effects of minimally invasive surgery on hypochlorous acid production by neutrophils // *Br J Surg*, 1994; 81(4): 557–560.
44. Carr D.J., Rogers T.J., Weber R.J. The relevance of opioid receptors on immunocompetence and immune homeostasis // *Proc SocExp Biol Med*, 1996; 213: 248–257.
45. Caselli E., Zatelli M.C., Rizzo R., et al. Virologic and immunologic evidence supporting an association between HHV-6 and Hashimoto's thyroiditis // *PLoS Pathog*. 2012; 8(10): e1002951.
46. Caserta M.T., Hall C.B., Schnabel K., et al. Primary human herpesvirus 7 infection: a comparison of human herpesvirus 7 and human herpesvirus 6 infections in children // *J Pediatr*, 1998;133(3): 386–389.
47. Caserta M.T., Mock D.J., Dewhurst S. Human herpesvirus 6 // *Clin Infect Dis*, 2001; 33(6): 829–833.

48. Cata J.P., Bauer M., Sokari T., et al. Effects of surgery, general anesthesia, and perioperative epidural analgesia on the immune function of patients with non-small cell lung cancer // *J Clin Anesth*, 2013; 25(4): 255–262.
49. Chapenko S., Folkmane I., Ziedina I., et al. Association of HHV-6 and HHV-7 reactivation with the development of chronic allograft nephropathy // *J Clin Virol*. 2009; 46(1): 29–32.
50. Chapenko S., Krumina A., Kozireva S., et al. Activation of human herpesviruses 6 and 7 in patients with chronic fatigue syndrome // *J Clin Virol*, 2006; 37; Suppl 1: 47–51.
51. Chappell D., Heindl B., Jacob M., et al. Sevoflurane reduces leukocyte and platelet adhesion after ischemia-reperfusion by protecting the endothelial glycocalyx // *Anesthesiology*, 2011; 115: 483–491.
52. Chappell D., Jacob M., Hofmann-Kiefer K., et al. A rational approach to perioperative fluid management // *Anesthesiology*, 2008; 109: 723–740.
53. Chase M.D., Schwartz S.I. Consistent patency of 1.5 mm arterial anastomoses // *Surg Forum*, 1962; 13: 220–222.
54. Chen C., Nguyen M.D., Bar-Meir E., et al. Effects of vasopressor administration on the outcomes of microsurgical breast reconstruction // *Ann Plast Surg*, 2010; 65: 28–31.
55. Chen R.M., Wu C.H., Chang H.C., et al. Wu GJ, Lin YL, Sheu JR. Propofol suppresses macrophage functions and modulates mitochondrial membrane potential and cellular adenosine triphosphate synthesis // *Anesthesiology*, 2003; 98(5): 1178–1185.
56. Chen T., Hudnall S.D. Anatomical mapping of human herpesvirus reservoirs of infection // *Mod Pathol*. 2006; 19(5): 726–737.
57. Chevret L., Boutolleau D., Halimi-Idri N., et al. Human herpesvirus-6 infection: a prospective study evaluating HHV-6 DNA levels in liver from children with acute liver failure // *J Med Virol*, 2008; 80(6): 1051–1057.
58. Chiu T.W., Leung C.C., Lau E.Y., et al. Analgesic effects of preoperative gabapentin after tongue reconstruction with the anterolateral thigh flap // *Hong Kong Med J*, 2012; 18: 30–34.
59. Chrousos G.P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation // *N Engl J Med*, 1995; 332(20): 1351–1362.
60. Clark J.R., McCluskey S.A., Hall F., et al. Predictors of morbidity following free flap reconstruction for cancer of the head and neck // *Head Neck*, 2007; 29: 1090–1101.
61. Coffey J.C., Wang J.H., Smith M.J., et al. Excisional surgery for cancer cure: therapy at a cost // *Lancet Oncol*, 2003; 4: 760–768.
62. Crawford J.R., Kadom N., Santi M.R., et al. Human herpesvirus 6 rhombencephalitis in immunocompetent children // *J Child Neurol*, 2007; 22(11): 1260–1268.
63. Cristaldi M., Rovati M., Elli M., et al. Lymphocytic subpopulation changes after open and laparoscopic cholecystectomy: a prospective and comparative study on 38 patients // *Surg Laparosc Endosc*, 1997; 7 (3): 255–261.
64. Daibata M., Taguchi T., Nemoto Y., et al. Inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 DNA // *Blood* 1999; 94(5): 1545–1549.
65. Daibata M., Taguchi T., Sawada T., et al. Chromosomal transmission of human herpesvirus 6 DNA in acute lymphoblastic leukaemia // *Lancet*, 1998; 352(9127): 543–544.
66. De Hert G., Cromheecke S., Ten Broecke P.W., et al. Effects of propofol, desflurane and sevoflurane on recovery of myocardial function after coronary surgery in elderly high-risk patients // *Anesthesiology*, 2003; 99: 314–323.
67. Decker D., Lindemann C., Springer W., et al. Endoscopic vs conventional hernia repair from an immunologic point of view // *Surg Endosc*, 1999; 13(4): 335–339.
68. Deng H., and Dewhurst S. Functional identification and analysis of cis-acting sequences which mediate genome cleavage and packaging in human herpesvirus 6 // *J Virol*, 1998; 72: 320–329.
69. Desborough J.P. The stress response to trauma and surgery // *Br J Anaesth*, 2000; 85(1): 109–117.
70. Dewhurst S., Dollard S.C., Pellett P.E., et al. Identification of a lytic phase origin of DNA replication in human herpesvirus 6B strain Z29 // *J. Virol*, 1993; 67(12): 7680–7683.
71. Di Luca D., Mirandola P., Ravaoli T., et al. Human herpesviruses 6 and 7 in salivary glands and shedding in saliva of healthy and human immunodeficiency virus positive individuals // *J. Med. Virol*, 1995; 45(4): 462–468.
72. Dockrell, D. H. Human herpesvirus 6: molecular biology and clinical features // *J Med Microbiol*, 2003; 52(1): 5–18.

73. Dominguez G., Dambaugh T.R., Stamey F.R., et al.. Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6A // *J. Virol*, 1999; 73(10): 8040–8052.
74. Duignan J.P., Collins P.B., Johnson A.H., et al. The association of impaired neutrophil chemotaxis with postoperative surgical sepsis // *Br J Surg*, 1986; 73(3): 238–240.
75. Dulery R., Salleron J., Dewilde A., et al. Early human herpesvirus type 6 reactivation after allogeneic stem cell transplantation: a large-scale clinical study // *Biol Blood Marrow Transplant*, 2012; 18(7): 1080–1089.
76. Eisenstein T.K., Hillburger M.E. Opioid modulation of immune responses: effects on phagocyte and lymphoid cell population // *J Neuroimmunol*. 1998; 83: 36–44.
77. Eley K.A., Young J.D., Watt-Smith S.R. Epinephrine, norepinephrine, dobutamine, and dexmedetomidine effects on free flap skin blood flow // *Plast Reconstr Surg*, 2012; 130: 564–570.
78. Eley K.A., Young J.D., Watt-Smith S.R. Power spectral analysis of the effects of epinephrine, norepinephrine, dobutamine and dexmedetomidine on microcirculation following free tissue transfer // *Microsurgery*, 2013; 33: 275–281.
79. Emery V.C., Atkins M.C., Bowen E.F., et al. Interactions between beta-herpesviruses and human immunodeficiency virus in vivo: evidence for increased human immunodeficiency viral load in the presence of human herpesvirus 6 // *J Med Virol*, 1999; 57(3): 278–282.
80. Enders G., Biber M., Meyer G., et al. Prevalence of antibodies to human herpesvirus 6 in different age groups, in children with exanthema subitum, other acute exanthematous childhood diseases, Kawasaki syndrome, and acute infections with other herpesviruses and HIV // *Infection*, 1990; 18(1): 12–15.
81. Epstein L.G., Shinnar S., Hesdorffer D.C., et al. Human herpesvirus 6 and 7 in febrile status epilepticus: the FEBSTAT study // *Epilepsia*, 2012; 53(9): 1481–1488.
82. Erni D., Banic A., Signer C., et al. Effects of epidural anaesthesia on microcirculatory blood flow in free flaps in patients under general anaesthesia // *Eur J Anaesthesiol*, 1999; 16: 692–698.
83. Fernandez-Botran F., Krammer P.H., Diamantstein T, et al., B cell-stimulatory factor 1 (BSF-1) promotes growth of helper T cell lines // *J Exp Med*, 1986; 164 (2): 580–593.
84. Ferrero E., Ferrero M.E., Marni A., et al. In vitro effects of halothane on lymphocytes // *Eur J Anaesthesiol*, 1986; 3(4): 321–330.
85. Fischer JP, Nelson JA, Sieber B, et al. Transfusions in autologous breast reconstructions: An analysis of risk factors, complications, and cost // *Ann Plast Surg*, 2014; 72: 566–571.
86. Flamand L., Gosselin J., Stefanescu I., et al. J. Immunosuppressive effect of human herpesvirus 6 on T-cell functions: suppression of interleukin-2 synthesis and cell proliferation // *Blood*, 1995; 85(5): 1263–1271.
87. Flamand L., Romerio F., Reitz M.S., et al. CD4 promoter transactivation by human herpesvirus 6 // *J Virol*, 1998; 72(11): 8797–8805.
88. Flamand L., Stefanescu I., Menezes J. Human herpesvirus-6 enhances natural killer cell cytotoxicity via IL-15 // *J Clin Invest*, 1996; 97(6): 1373–1381.
89. Flamand, L., Gosselin, J., D'Addario, et al. Human herpesvirus 6 induces interleukin-1b and tumor necrosis factor alpha, but not interleukin-6, in peripheral blood mononuclear cell cultures // *J. Virol*, 1991; 65: 5105–5110.
90. Flores L.R., Dretchen K.L., Bayer B.M. Potential role of the autonomic nervous system in the immunosuppressive effects of the acute morphine administration // *Eur J Pharmacol*, 1996; 318: 437–446.
91. Freier D.O., Fuchs B.A. A mechanism of action for morphine induced immunosuppression: corticosterone mediates morphine induced suppression of NK cell activity // *J Pharmacol Exp Ther*, 1993; 270: 1127–1133.
92. Frenkel N., Schirmer E.C., Wyatt L.S., et al. Isolation of a new herpesvirus from human CD4+ Tcells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990; 87: 748–752.
93. Fuchs B.A., Pruett S.B. Morphine induces apoptosis in murine thymocytes in vivo but not in vitro: involvement of both opiate and glucocorticoid receptors // *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266(1): 417–423.
94. Fujino M., Ohashi M., Tanaka K., et al. Rhabdomyolysis in an infant with primary human herpesvirus 6 infection // *Pediatr Infect Dis J*, 2012; 31(11): 1202–1203.
95. Fujisawa T., Yamaguchi Y. Autologous tumor killing activity as a prognostic factor in primary resected nonsmall cell carcinoma of the lung // *Cancer* 1997; 79(3): 474–481.

96. Furukawa M., Yasukawa M., Yakushijin Y, et al.. Distinct effects of human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7 on surface molecule expression and function of CD4+ T cells // *J. Immunol*, 1994; 152(12): 5768–5775.
97. Gardiner M.D., Nanchahal J.. Strategies to ensure success of microvascular free tissue transfer // *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2010; 63: 665–673.
98. Gillies H. Practical uses of the tubed pedicle flap // *AmJ Surg*, 1939; 43: 201–205.
99. Gillies H. Tubed Pedicle in Plastic Surgery of the Face Based on Selected Cases of War Injuries of the Face, Including Burns. London: Oxford Medical Publications, 1929.
100. Goldwyn R.M., Lamb D.L., White W.L. An experimental study of large island flaps in dogs // *Plast Reconstr Surg*, 1963; 31: 528–536.
101. Gompels U.A., Macaulay H.A.. Characterization of human telomeric repeat sequences from human herpesvirus 6 and relationship to replication // *J Gen. Virol*, 1995; 76(2): 451–458.
102. Graham E.A. The influence of ether and ether anaesthesia on bacteriolysis, agglutination, and phagocytosis // *J Infect Dis*, 1911; 8: 147–175.
103. Griffiths P.D. The indirect effects of virus infections // *Rev. Med. Virol*, 2003; 13: 1–3.
104. Grima P., Chiavaroli R., Calabrese .P, et al. Severe hepatitis with autoimmune features following a HHV-6: a case report // *Cases J*, 2008; 1(1): 110.
105. Grivel JC, Santoro F, Chen S, et al.. Pathogenic effects of human herpesvirus 6 in human lymphoid tissue ex vivo // *J Virol*, 2003; 77(15): 8280–8289.
106. Gryglewski A., Szczepanik M. The Effect of Surgical Stress on Postoperative T α β and T γ δ Cell Distribution. // *Immunol Invest*, 2017; Mar 30: 1–9.
107. Hagau N, Longrois D. Anesthesia for free vascularized tissue transfer // *Microsurgery*, 2009; 29(2): 161–167.
108. Hahn R.G. Microvascular changes and anesthesia // *Acta Anaesthesiol Scand*, 2002; 46: 479–480.
109. Hall C.B, Long C.E., Schnabel K.C., et al. Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation // *N Engl J Med*, 1994; 331(7): 432–438.
110. Hall C.B., Caserta M.T., Schnabel K.C., et al. Congenital infections with human herpesvirus 6 (HHV6) and human herpesvirus 7 (HHV7) // *J Pediatr*, 2004; 145(4): 472–477.
111. Hall C.B., Caserta M.T., Schnabel K.C., et al. Transplacental congenital human herpesvirus 6 infection caused by maternal chromosomally integrated virus // *J Infect Dis*, 2010; 201(4): 505–507.
112. Hallock G.G. Critical threshold for tissue viability as determined by laser Doppler flowmetry.// *Ann Plast Surg*, 1992; 28: 554–558.
113. Hamra J.G., Yaksh T.L. Halothane inhibits T cell proliferation and interleukin-2 receptor expression in rats. *ImmunopharmacolImmunotoxicol*, 1996; 18: 323–336.
114. Harris L., Goldstein D., Hofer S., et al. Impact of vasopressors on outcomes in head and neck free tissue transfer // *Microsurgery*, 2012; 32: 15–19.
115. Hasegawa A., Yasukawa M., Sakai I, et al. Transcriptional down-regulation of CXC chemokine receptor 4 induced by impaired association of transcription regulator YY1 with c-Myc in human herpesvirus 6-infected cells // *J Immunol*, 2001; 166(2): 1125–1131.
116. Haughey B.H., Wilson E., Kluwe L., et al. Free flap reconstruction of the head and neck: Analysis of 241 cases // *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2001; 125: 10–17.
117. Heine J., Leuwer M., Scheinichen D., et al. Flow cytometry evaluation of the in vitro influence of four i.v. anaesthetics on respiratory burst of neutrophils // *Br J Anaesth*, 1996; 77: 387–392.
118. Hidaka Y., Okada K., Kusuhara K, et al. Exanthem subitum and human herpesvirus 7 infection // *Pediatr Infect Dis J*, 1994; 13(11): 1010–1011.
119. Hidalgo D.A., Jones C.S. The role of emergent exploration in free tissue transfer. A review of 150 consecutive cases // *Plast Reconstr Surg*, 1990; 86: 492–499.
120. Hill J.B., Sexton K.W., Del Corral G.A., et al. The clinical role of intraoperative core temperature in free tissue transfer // *Plast Reconstr Surg*, 2012; 130(Suppl 1): 95–96.
121. Hirata Y., Kondo K., Yamanishi K.. Human herpesvirus 6 downregulates major histocompatibility complex class I in dendritic cells // *J Med Virol*, 2001; 65(3): 576–583.
122. Hogan B.V., Peter M.B., Shenoy H.G., et al. Surgery induced immunosuppression // *Surgeon*, 2011; 9(1): 38–43.
123. Høgevoid H.E., Lyberg T., Kähler H., et al. Changes in plasma IL-1- β TNF- α and IL-6 after total hip replacement surgery in general or regional anesthesia // *Cytokine*, 2000; 12: 1156–1159.

124. Hole A., Unsgaard G. The effect of epidural and general anaesthesia on lymphocyte functions during and after major orthopaedic surgery // *Acta Anaesthesiol Scand*, 1983; 27: 135–141.
125. Horvat R.T., Parmely M.J., Chandran B.. Human herpesvirus 6 inhibits the proliferative responses of human peripheral blood mononuclear cells // *J Infect Dis*. 1993; 167(6): 1274–1280.
126. Inberg P., Kassila M., Vilkki S., et al. Anesthesia for microvascular surgery in children. A combination of general anesthesia and axillary plexus block // *Acta Anaesthesiol Scand*, 1995; 39: 518–522.
127. Inoue Y., Yasukawa M., Fujita S. Induction of T-cell apoptosis by human herpesvirus 6 // *J Virol*, 1997; 71(5): 3751–3759.
128. Inoue N., and Pellett P.E. Human herpesvirus 6B origin-binding protein: DNA-binding domain and consensus binding sequence // *J Virol*, 1995; 69: 4619–4627.
129. Ishikawa M., Nishioka M., Hanaki N., et al. Perioperative immune responses in cancer patients undergoing digestive surgeries // *World J Surg Oncol*, 2009; 7: 7.
130. Yagasaki H., Kato M., Shimizu N., et al. Autoimmune hemolytic anemia and autoimmune neutropenia in a child with erythroblastopenia of childhood (TEC) caused by human herpesvirus-6 (HHV- 6) // *Ann Hematol*, 2011; 90(7): 851–852.
131. Yamanishi K., Okuno T., Shiraki K., et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum // *Lancet*, 1988; 1(8594): 1065–1067.
132. Yanagi Y. , Cubitt B.A., Oldstone M.B.A. Measles virus inhibits mitogen-induced T cell proliferation but does not directly perturb the T cell activation process inside the cell // *Virology*, 1992; 187: 280–289.
133. Yasukawa M., Hasegawa A., Sakai I., Ohminami H., et al. Down-regulation of CXCR4 by human herpesvirus 6 (HHV-6) and HHV-7 // *J Immunol*, 1999; 162(9): 5417–5422.
134. Yasukawa M., Inoue Y., Ohminami H., et al .Apoptosis of CD4+ T lymphocytes in human herpesvirus-6 infection // *J Gen Virol*, 1998; 79 (1): 143–147.
135. Yeager M.P., Procopio M.A., DeLeo J.A., t al. Intravenous fentanyl increases natural killer cell cytotoxicity and circulating CD16+ lymphocytes in humans // *Anesth Analg*, 2002; 94: 94–99.
136. Yoshida M., Uno F., Bai Z.L., et al. Electron microscopic study of a herpes-type virus isolated from an infant with exanthem subitum // *Microbiol. Immunol*, 1989; 33: 147–154.
137. Yoshikawa T. Human herpesvirus-6 and -7 infections in transplantation // *Pediatr Transplant*, 2003; 7(1): 11–17.
138. Young V.L., Watson M.E. Prevention of perioperative hypothermia in plastic surgery // *Aesthet Surg J*, 2006; 26: 551–571.
139. Jacobs R., Karst M., Scheinichen D., et al. Effects of Fentanyl on cellular immune functions in man // *Int J Immunopharmacol*, 1999; 21: 445–454.
140. Jacobson J.H., Suarez E.L. Microsurgery in anastomosis of small vessels // *Surg Forum*, 1960; 11:243.
141. Jaeger K., Scheinichen D., Heine J., et al. Remifentanyl, fentanyl and alfentanil have no effect on the respiratory burst of neutrophils in vitro // *Acta Anaesthesiol Scand*. 1998; 42: 1110–1113.
142. Jeziorski E., Senechal B., Molina T.J., et al. Herpes-virus infection in patients with Langerhans cell histiocytosis: a case-controlled sero-epidemiological study, and in situ analysis // *PLoS One*, 2008; 3(9): e3262.
143. Jones N.F., Jarrahy R, Song J.I., Kaufman M.R., et al. Postoperative medical complications—not microsurgical complications—negatively influence the morbidity, mortality, and true costs after microsurgical reconstruction for head and neck cancer // *Plast Reconstr Surg* 2007; 119: 2053–2060.
144. Joris J., Ozaki M., Sessler D.I., et al. Epidural anesthesia impairs both central and peripheral thermoregulatory control during general anesthesia // *Anesthesiology*, 1994; 80: 268–277.
145. Kakimoto M., Hasegawa A., Fujita S., et al. Phenotypic and functional alterations of dendritic cells induced by human herpesvirus 6 infection // *J Virol*. 2002; 76(20): 10338–10345
146. Kapasi K., Rice G.P.A. Cytomegalovirus infection of peripheral blood mononuclear cells: Effects on interleukin-1 and -2 production and responsiveness // *J Virol*, 1988; 62: 3603–3607.
147. Karakida K., Aoki T., Ota Y., et al. Analysis of risk factors for surgical-site infections in 276 oral cancer surgeries with microvascular free-flap reconstructions at a single university hospital // *J Infect Chemother*, 2010; 16: 334–339.

148. Kawasaki T., Ogata M., Kawasaki C., et al. Effects of epidural anaesthesia on surgical stress-induced immunosuppression during upper abdominal surgery // *Br J Anaesth*, 2007; 98(2): 196–203.
149. Kehlet H. Manipulation of the metabolic response in clinical practice // *World J Surg*, 2000; 24: 690–695.
150. Kehlet H., Nielsen H.J. Impact of laparoscopic surgery on stress responses, immunofunction, and risk of infectious complications // *New Horiz*, 1998; 6(Suppl. 2): 80–88.
151. Kempf W., Adams V., Wey N., et al. CD68+ cells of monocyte/macrophage lineage in the environment of AIDS-associated and classic-sporadic Kaposi sarcoma are singly or doubly infected with human herpesviruses 7 and 6B // *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94(14): 7600–7605.
152. Kendall S.J., Weir J., Aspinall R., et al. Erythrocyte transfusion causes immunosuppression after total hip replacement // *Clin Orthop Relat Res*, 2000; (381): 145–155.
153. Kennedy B.C., Hall G.M. Neuroendocrine and inflammatory aspects of surgery: do they affect outcome // *Acta Anaesthesiol Belg*, 1999; 50(4): 205–259.
154. Khouri R.K., Cooley B.C., Kunselman A.R., Landis J.R., et al. A prospective study of microvascular free-flap surgery and outcome // *Plast Reconstr Surg*, 1998; 102: 711–721.
155. Kim B.D., Ver Halen J.P., Mlodinow A.S., et al. Intraoperative transfusion of packed red blood cells in microvascular free tissue transfer patients: Assessment of 30-day morbidity using the NSQIP dataset // *J Reconstr Microsurg*, 2014; 30: 103–114.
156. Kitamura T., Ohno N., Bougaki M., et al. Comparison of the effects of sevoflurane and propofol on changes in leukocyte-count induced by surgical stress // *Masui*, 2008; 57(8): 968–972.
157. Kloosterman T., von Blomberg B.M., Borgstein P., et al. Unimpaired immune functions after laparoscopic cholecystectomy // *Surgery*, 1994; 115(4): 424–428.
158. Kobayashi T., Shiiba K., Satoh M., et al. Interleukin-12 administration is more effective for preventing metastasis than for inhibiting primary established tumors in a murine model of spontaneous hepatic metastasis // *Surg Today*, 2002; 32(3): 236–242.
159. Krizek T.J., Tan I.T., Des Pres J.A., et al. Experimental Experimental transplantation of composite grafts by microsurgical vascular anastomosis // *Plast Reconstr Surg* 1965; 36: 538–45.
160. Krumholz W., Endrass J., Hemplemann G. Inhibition of phagocytosis and killing of bacteria by anaesthetic agents in vitro // *Br J Anaesth*, 1995; 75: 66–70.
161. Kumagai T., Yoshikawa T., Yoshida M., et al. Time course characteristics of human herpesvirus 6 specific cellular immune response and natural killer cell activity in patients with exanthema subitum // *J Med Virol*, 2006; 78(6): 792–799.
162. Kurosawa S., Kato M. Anesthetics, immune cells, and immune responses // *Journal of Anesthesia*, 2008; 22: 263–277.
163. Kurt E., Ozturk S., Isik S., et al. Continuous brachial plexus blockade for digital replantations and toe-to-hand transfers // *Ann Plast Surg*, 2005; 54: 24–27.
164. Lanari M., Papa I., Venturi V., et al. Congenital infection with human herpesvirus 6 variant B associated with neonatal seizures and poor neurological outcome // *J. Med. Virol*, 2003; 70: 628–632.
165. Larsson E.L. Cyclosporin A and dexamethasone suppress T cell responses by selectively acting at distinct sites of the triggering process // *J Immunol*, 1980; 124(6): 2828–2833.
166. Le Cras A.E., Galley H.F., Webster N.R. Spinal but not general anesthesia increases the ratio of T helper 1 to T helper 2 cell subsets in patients undergoing transurethral resection of the prostate // *Anesth Analg*, 1998; 87(6): 1421–1425.
167. Leaver H.A., Craig S.R., Yap P.L., et al. Lymphocyte responses following open and minimally invasive thoracic surgery // *Eur J Clin Invest*, 2000; 30(3): 230–238.
168. Lee K.T., Jeon B.J., Lim S.Y., et al. The effects of ketorolac on microvascular thrombosis in lower extremity reconstruction // *Plast Reconstr Surg*, 2012; 129: 1322–1327.
169. Li C., Goodrich J.M., Yang X.. Interferon-gamma (IFN-gamma) regulates production of IL-10 and IL-12 in human herpesvirus-6 (HHV-6)-infected monocyte/macrophage lineage // *Clin Exp Immunol*, 1997; 109(3): 421–425.
170. Liu Y.J., Hirsch B.P., Shah A.A., et al. Mild intraoperative hypothermia reduces free tissue transfer thrombosis // *J Reconstr Microsurg*, 2011; 27: 121–126.
171. Liu S., Carpenter R.L., Neal J.M. Epidural anesthesia and analgesia. Their role in postoperative outcome // *Anesthesiology*, 1995; 82: 1474–1506.

172. Liu S.A., Wong Y.K., Poon C.K., et al. Risk factors for wound infection after surgery in primary oral cavity cancer patients // *Laryngoscope*, 2007; 117: 166–171.
173. Louer C.R., Chang J.B., Hollenbeck S.T., et al. Autologous blood use for free flap breast reconstruction: A comparative evaluation of a preoperative blood donation program // *Ann Plast Surg*, 2013; 70: 158–161.
174. Lucchinetti E., Ambrosio S., Aguirre J., et al. Sevoflurane inhalation at sedative concentrations provides endothelial protection against ischemia-reperfusion injury in humans // *Anesthesiology*, 2007; 106: 262–268.
175. Luppi M., Marasca R., Barozzi P., et al. Three cases of human herpesvirus-6 latent infection: integration of viral genome in peripheral blood mononuclear cell DNA // *J Med Virol*, 1993; 40(1): 44–52.
176. Lusso P., Secchiero P., Crowley R.W., et al. CD4 is a critical component of the receptor for human herpesvirus 7: interference with human immunodeficiency virus // *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994; 91(9): 3872–3876.
177. MacDonald D.J.F. Anesthesia for microvascular surgery—A physiological approach // *Br J Anaesth*, 1985; 57: 904–912.
178. Maeda T., Okuno T., Hayashi K., et al. Outcomes of infants whose mothers are positive for human herpesvirus-6 DNA within the genital tract in early gestation // *Acta Paediatr Jpn*, 1997; 39(6): 653–657.
179. Maeki T., Mori Y. Features of Human Herpesvirus-6A and -6B Entry // *Adv Virol*, 2012; 384069.
180. Mahdy A.M., Galley H.F., Abdel-Wahed M.A., et al. Differential modulation of interleukin-6 and interleukin-10 by diclofenac in patients undergoing major surgery // *Br J Anaesth*, 2002; 88(6): 797–802.
181. Manohin A., Manohin M. Important physical principles in anaesthesiology // *Eur J Anaesthesiol*, 2003; 20: 259–281.
182. Martini J., Cabrales P., Tsai A.G., et al. Mechanotransduction and the homeostatic significance of maintaining blood viscosity in hypotension, hypertension and haemorrhage // *J Intern Med*, 2006; 259: 364–372.
183. Matsukawa T., Sessler D.I., Christensen R., et al. Heat flow and distribution during epidural anesthesia // *Anesthesiology*, 1995; 83: 961–967.
184. Matsuoka H., Kurosawa S., Horinouchi T., et al. Inhalation anesthetics induce apoptosis in normal peripheral lymphocytes in vitro // *Anesthesiology*, 2001; 95: 1467–1472.
185. McAlister F.A., Khan N.A., Straus S.E., et al. Accuracy of the preoperative assessment in predicting pulmonary risk after non-thoracic surgery // *Am J Respir Crit Care Med*, 2003; 167: 741–744.
186. Meyding-Lamadé U., Strank C. Herpesvirus infections of the central nervous system in immunocompromised patients // *Ther Adv Neurol Disord*, 2012; 5(5): 279–296.
187. Messina E. J., Sun D., Koller A., et al. Increases in oxygen tension evoke arteriolar constriction by inhibiting endothelial prostaglandin synthesis // *Microvasc Res*, 1994; 48: 151–160.
188. Mitsuhashi H., Shimizu R., Yokoyama M.M. Suppressive effects of volatile anesthetics on cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells // *Int J Immunopharmacol*, 1995; 17: 529–534.
189. Mokart D., Capo C., Blache D.L., et al. Early postoperative compensatory anti-inflammatory response syndrome is associated with septic complications after major surgical trauma in patients with cancer // *Br J Surg*, 2002; 89: 1450–1456.
190. Monroe M.M., Cannady S.B., Ghanem T.A., et al. Safety of vasopressor use in head and neck microvascular reconstruction: A prospective observational study // *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2011; 144: 877–882.
191. Monroe M.M., McClelland J., Swide C., et al. Vasopressor use in free tissue transfer surgery // *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2010; 142: 169–173.
192. Mori Y., Seya T., Huang H.L., Akkapaiboon P., et al. Human herpesvirus 6 variant A but not variant B induces fusion from without in a variety of human cells through a human herpesvirus 6 entry receptor, CD46 // *J Virol*, 2002; 76(13): 6750–6761.
193. Motakef S., Mountziaris P.M., Ismail I.K., et al. Emerging paradigms in perioperative management for microsurgical free tissue transfer: review of the literature and evidence-based guidelines // *Plast Reconstr Surg*, 2015; 135(1): 290–299.

194. Moudgil G. C., Update on anesthesia and the immune response // *Can Anaesth Soc J.*, 1986 (33): 54–60.
195. Nakagava M., Tanaka H., Tsukuma H., et al. Relationship between the duration of the preoperative smoke free period and the incidence of postoperative pulmonary complications after pulmonary surgery // *Chest*, 2001; 120: 705–710.
196. Nakagawara M., Takeshige K., Takamatsu J., et al. Inhibition of superoxide production and Ca²⁺ mobilization in human neutrophils by halothane, enflurane, and isoflurane // *Anesthesiology*, 1986; 64(1): 4–12.
197. Nakayama K. et al. Experience with free autografts of the bowel with a new venous anastomosis apparatus // *Surgery*, 1964; 55: 796.
198. Ng C.S., Lau K.K. Surgical Trauma and Immune Functional Changes Following Major Lung Resection // *Indian J Surg*, 2015; 77(1): 49–54.
199. Ni Choileain N., Redmond H.P. Cell response to surgery // *Arch Surg*, 2006; 141(11), 1132–1140.
200. Nicholas J. Determination and analysis of the complete nucleotide sequence of human herpesvirus // *J Virol*, 1996; 70, 5975–5989.
201. Nora-Krukke Z., Chapenko S., Logina I. et al. Human herpesvirus 6 and 7 reactivation and disease activity in multiple sclerosis // *Medicina (Kaunas)*, 2011; 47(10): 527–531.
202. Nordström I., Eriksson K. HHV-6B induces IFN- λ responses in cord plasmacytoid dendritic cells through TLR9 // *PLoS One*. 2012; 7(6): e38683.
203. Novitsky Y.W., Czerniach D.R., Kaban G.K., et al. Immunologic effects of hand-assisted surgery on peritoneal macrophages: comparison to open and standard laparoscopic approaches // *Surgery* 2006; 139(1): 39–45.
204. Nunes S., Berg L., Raitinen L.P., et al. Deep sedation with dexmedetomidine in a porcine model does not compromise the viability of free microvascular flap as depicted by microdialysis and tissue oxygen tension // *Anesth Analg*, 2007; 105: 666–672.
205. Ogawa K., Hirai M., Katsube T., et al. Suppression of cellular immunity by surgical stress // *Surgery*, 2000; 127(3): 329–336.
206. O'Neill A.C., Barandun M., Cha J., et al. Restrictive use of perioperative blood transfusion does not increase complication rates in microvascular breast reconstruction // 2016; 69(8): 1092–1096.
207. Øster B., Bundgaard B., Höllsberg P. Human herpesvirus 6B induces cell cycle arrest concomitant with p53 phosphorylation and accumulation in T cells // *J Virol*, 2005; 79(3): 1961–1965.
208. Ozkan O., Ozgentas H.E., Islamoglu K., et al. Experiences with microsurgical tissue transfers in elderly // *Microsurgery*, 2005; 25(5): 390–395.
209. Page G.G., Blakely W.P., Ben-Eliyahu S. Evidence that postoperative pain is a mediator of the tumor-promoting effects of surgery in rats // *Pain*, 2001; 90(1e2): 191–199.
210. Patel R.S., McCluskey S.A., Goldstein D.P., et al. Clinicopathologic and therapeutic risk factors for perioperative complications and prolonged hospital stay in free flap reconstruction of the head and neck // *Head Neck*, 2010; 32: 1345–1353.
211. Pischke S., Gössling J., Engelmann I., et al. High intrahepatic HHV-6 virus loads but neither CMV nor EBV are associated with decreased graft survival after diagnosis of graft hepatitis // *J Hepatol*. 2012; 56(5): 1063–1069.
212. Pohlenz P., Blessmann M., Heiland M., et al. Postoperative complications in 202 cases of microvascular head and neck reconstruction // *J Craniomaxillofac Surg*, 2007; 35: 311–315.
213. Preston F.M., Beier P.L., Pope J.H. Infectious respiratory syncytial virus (RSV) effectively inhibits the proliferative T cell response to inactivated RSV in vitro // *J Infect Dis*, 1992; 165(5): 819–825.
214. Rebora A., Drago F., Broccolo F. Pityriasis rosea and herpesviruses: facts and controversies // *Clin Dermatol*, 2010; 28(5): 497–501.
215. Redmond H.P., Watson W., Houghton T., et al. Immune function in patients undergoing open vs laparoscopic cholecystectomy // *Arch Surg*, 1994; 129(12): 1240–1246.
216. Roberts R.E., Douglass F.M. Replacement of the cervical oesophagus and hypopharynx by a revascularised free jejunal autograft // *N Engl J Med*, 1961; 264: 342–344.
217. Rossi C., Delforge M.L., Jacobs F., et al. Fatal primary infection due to human herpesvirus 6 variant A in a renal transplant recipient // *Transplantation*. 2001; 71(2): 288–292.

218. Sacerdote P., Limioli E., Gaspani L. Experimental evidence for immunomodulatory effects of opioids // *Adv Exp Med Biol*, 2003; 521: 106–116.
219. Salahuddin S.Z., Ablashi D.V., Markham P.D., et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders // *Science*, 1986; 234: 596–601.
220. Salo M., Eskola J., Nikoskelainen J. T- and B-lymphocyte function in anaesthetics // *Acta Anaesthesiol Scand*, 1984; 28: 292–295.
221. Salo M. Effects of anaesthesia and surgery on the immune response // *Acta Anaesthesiol Scand*, 1992; 36: 201–220.
222. Salo M. Trauma, stress and immunity in anaesthesia and surgery // London: Butterworth Scientific; 1982; 211–253.
223. Sampaio A.M., Thomasini R.L., Guardia A.C., et al. Cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and human herpesvirus-7 in adult liver transplant recipients: diagnosis based on antigenemia // *Transplant Proc*. 2011; 43(4): 1357–1359.
224. Santoro F., Greenstone H.L., Insinga A., et al Interaction of glycoprotein H of human herpesvirus 6 with the cellular receptor CD46 // *J Biol Chem*, 2003; 278: 25964–25969.
225. Santoro F., Kennedy P.E., Locatelli G., et al. CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6 // *Cell*, 1999; 99(7): 817–827.
226. Scalia R., Gong Y., Berzins B., et al. Hyperglycemia is a major determinant of albumin permeability in diabetic microcirculation. The role of α 1 Calpain // *Diabetes*, 2007; 56: 1842–1849.
227. Schirmer E.C., Wyatt L.S., Yamanishi K., et al. Differentiation between two distinct classes of viruses now classified as human herpesvirus 6 // *Proc Natl. Acad Sci. USA*, 1991; 88: 5922–5926.
228. Schwartz Y., Avraham R., Benish M., et al. Prophylactic IL-12 treatment reduces postoperative metastasis: mediation by increased numbers but not cytotoxicity of NK cells // *Breast Cancer Res Treat*, 2008; 107(2): 211–223.
229. Schwartz K.L., Richardson S.E., Ward K.N., et al Delayed primary HHV-7 infection and neurologic disease // *Pediatrics*, 2014; 133(6): 1541–1547.
230. Scott G.R., Rothkopf D.M., Walton R.L. Efficacy of epidural anesthesia in free flaps to the lower extremity // *Plast Reconstr Surg*, 1993; 91: 673–677.
231. Secchiero P., Flamand L., Gibellini D., et al Human Herpesvirus 7 induces CD4(+) T-cell death by two distinct mechanisms: necrotic lysis in productively infected cells and apoptosis in uninfected or nonproductively infected cells // *Blood*, 1997; 90(11): 4502–4512.
232. Seidenberg B., Rosenak S., Hurwitt E.S., et al. Immediate reconstruction of the cervical oesophagus by a revascularised isolated jejunal segment // *Ann Surg*, 1959; 149: 162–171.
233. Serletti J.M., Higgins J.P., Moran S., et al. Factors affecting outcome in free-tissue transfer in the elderly // *Plast Reconstr Surg*, 2000; 106: 66–70.
234. Shakhhar 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.
235. Shavit Y., Ben-Eliyahu S., Zeidel A., et al. Effects of Fentanyl on natural killer cell activity and on resistance to tumor metastasis in rats. Dose and timing study // *Neuroimmunomodulation*, 2004; 11: 255–260.
236. Shaw W.W. Microvascular free flaps: The first decade // *Clin Plast Surg*, 1983; 10: 3–20.
237. Shermak M., Shoo B., Deune E. G. Prone positioning precautions in plastic surgery // *Plast Reconstr Surg*, 2006; 117: 1584–1588.
238. Sigurdsson G.H., Thomson D. Anesthesia and microvascular surgery: Clinical practice and research // *Eur J Anaesthesiol*, 1995; 12: 101–122.
239. Sigurdsson G.H. Perioperative fluid management in microvascular surgery // *J Reconstr Microsurg*, 1995; 11: 57–65.
240. Smith A., Santoro F., Di Lullo G., et al. Selective suppression of IL-12 production by human herpesvirus 6 // *Blood*, 2003; 102(8): 2877–2884.
241. Smith A.P., Paolucci C., Di Lullo G. et al. Viral replication-independent blockade of dendritic cell maturation and interleukin-12 production by human herpesvirus 6 // *J Virol*, 2005; 79(5): 2807–2813.
242. Smith E.M. Opioid peptides in immune cells // *Adv Exp Med Biol*, 2003; 521: 51–68.
243. Stasiak P.C., Mocarski E.S. Transactivation of the cytomegalovirus ICP36 gene promoter requires the alpha gene product TRS1 in addition to IE1 and IE2 // *J Virol*, 1992; 66: 1050–1058.

244. Stevenson G.M., Hall S.C., Miller P.J., et al. The effects of anesthetic agents on human immune system function. I. Design of a system to deliver inhalational anesthetic agents to leukocytes cultures in vitro // *J Immunol Methods*, 1986; 88: 277–283.
245. Stevenson G.W., Hall S.C., Rudnick S., et al. The effect of anaesthetic agents on the human immune response // *Anesthesiology*, 1990; 72: 542–552.
246. Su H.H., Lui P.W., Yu C.L., et al. The effects of continuous axillary brachial plexus block with ropivacaine infusion on skin temperature and survival of crushed fingers after microsurgical replantation // *Chang Gung Med J*, 2005; 28: 567–574.
247. Suh J.D., Sercarz J.A., Abemayor E., et al. Analysis of outcome and complications in 400 cases of microvascular head and neck reconstruction // *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2004; 130: 962–966.
248. Sumer B.D., Myers L.L., Leach J., et al. Correlation between intraoperative hypothermia and perioperative morbidity in patients with head and neck cancer. // *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2009; 135: 682–686.
249. Takahashi K., Sonoda S., Higashi K., et al. Predominant CD4 T-lymphocyte tropism of human herpesvirus 6-related virus // *J Virol* 1989; 63: 3161–3163.
250. Takaku T., Ohyashiki J.H., Zhang Y., et al. Estimating immunoregulatory gene networks in human herpesvirus type 6-infected T cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 336(2): 469–477.
251. Takeda K., Okuno T., Isegawa Y., et al. Identification of a variant A-specific neutralizing epitope on glycoprotein B (gB) of human herpesvirus-6 (HHV-6) // *Virology*, 1996; 222: 176–183.
252. Takemoto M., Yamanishi K., Mori Y.. Human herpesvirus 7 infection increases the expression levels of CD46 and CD59 in target cells // *J Gen Virol*, 2007; 88(5): 1415–1420.
253. Takeshita T., Asao H., Ohtani K., et al. Cloning of the g chain of the human IL-2 receptor // *Science*, 1992; 257 (5068): 379–382.
254. Tanaka K., Kondo T., Torigoe S., et al. Human herpesvirus 7: another causal agent for roseola (exanthem subitum) // *J Pediatr*, 1994; 125(1): 1–5.
255. Tanaka M., Shigihara Y., Funakura M., et al. Fatigue-associated alterations of cognitive function and electroencephalographic power densities // *PLoS One*, 2012; 7(4): e34774.
256. Tanaka-Taya K., Sashihara J., Kurahashi H., et al. Human herpesvirus 6 (HHV-6) is transmitted from parent to child in an integrated form and characterization of cases with chromosomally integrated HHV-6 DNA // *J Med Virol*, 2004; 73(3): 465–473.
257. Tang H., Serada S., Kawabata A., et al. CD134 is a cellular receptor specific for human herpesvirus-6B entry // *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013; 110(22): 9096–9099.
258. Tejada-Simon M.V., Zang Y.C., Hong J. et al. Cross-reactivity with myelin basic protein and human herpesvirus-6 in multiple sclerosis // *Ann Neurol*, 2003; 53(2): 189–197.
259. Teo I.A., Griffin B.E., Jones M.D. Characterization of the DNA polymerase gene of human herpesvirus 6 // *J. Virol*, 1991; 65: 4670–4680.
260. Tesini B.L., Epstein L.G., Caserta M.T. Clinical impact of primary infection with roseoloviruses // *Curr Opin Virol*. 2014; 9: 91–96.
261. Thomson B.J., Weindler F.W., Gray D., et al. Human herpesvirus 6 (HHV-6) is a helper virus for adeno-associated virus type 2 (AAV-2) and the AAV-2 rep gene homologue in HHV-6 can mediate AAV-2 DNA replication and regulate gene expression // *Virology*, 1994; 204: 304–311.
262. Thomson J.G., Mine R., Shah A., et al. The effect of core temperature on the success of free tissue transfer // *J Reconstr Microsurg*, 2009; 25: 411–416.
263. Thorne C.H., Beasley R.W., Aston S. J., et al.: *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. – 6th ed. – Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. – Pp. 62–67.
264. Toft P., Svendsen P., Tønnesen E., et al. Redistribution of lymphocytes after major surgical stress // *Acta Anaesthesiol Scand*, 1993; 37(3): 245–249.
265. Toft P., Tonnesen E. The systemic inflammatory response to anaesthesia and surgery // *Curr Anaesth Crit Care*, 2008; 19: 349–353.
266. Tong-Guo S., Jun-Ping W., Zhi G.. Analysis of circulating regulatory T cells (CD4⁺ CD25⁺ CD127[−]) after cryosurgery in prostate cancer // *Asian J Androl*, 2013; 15(4): 461–465.
267. Tønnesen E., Wahlgreen C. Influence of extradural and general anaesthesia on natural killer cell activity and lymphocyte subpopulations in patients undergoing hysterectomy // *Br J Anaesth*, 1988; 60: 500–507.

268. Torrisi M.R., Gentile M., Cardinali G., et al Intracellular transport and maturation pathway of human herpesvirus 6 // *Virology*, 1999; 257: 460–471.
269. Tsai A. G., Friesenecker B., McCarthy M., et al. Plasma viscosity regulates capillary perfusion during extreme hemodilution in hamster skinfold model // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1998; 275: 2170–2180.
270. Tsai A.G., Cabrales P, Winslow RM, et al. Microvascular oxygen distribution in awake hamster window chamber model during hyperoxia // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003; 285: 1537–1545.
271. Vallina V.L., Velasco J.M. The influence of laparoscopy on lymphocyte subpopulations in the surgical patient // *Surg Endosc*, 1996; 10(5): 481–484.
272. Van den Berg J.S., van Zeijl J.H., Rotteveel J.J., et al. Neuroinvasion by human herpesvirus type 7 in a case of exanthem subitum with severe neurologic manifestations // *Neurology*, 1999; 52(5): 1077–1079.
273. van Dijk W.C., Verbrugh H.A., van Rijswijk R.E., et al. Neutrophil function, serum opsonic activity, and delayed hypersensitivity in surgical patients // *Surgery*, 1982; 92(1): 21–29.
274. Vilks A., Ozols D., Boka V., Murovska M., Mamaja B. Outcomes of surgical correction of congenital tibia pseudarthrosis depending on the activation of HHV-6/HHV-7 viral infection in a child with neurofibromatosis type-1. // *Anesteziol Reanimatol*, 2014; Jan-Feb (1): 61–63.
275. Vyas K., Wong L. Intraoperative management of free flaps: Current practice // *Ann Plast Surg*, 2014; 72: 220–223.
276. Vossen M.T., Westerhout E.M., Söderberg-Nauclér C., et al EJ. Viral immune evasion: a masterpiece of evolution // *Immunogenetics*. 2002; 54(8): 527–542.
277. Wada H., Seki S., Takahashi T., et al. Combined spinal and general anesthesia attenuates liver metastasis by preserving Th1/Th2 cytokine balance // *Anesthesiology*, 2007; 106: 499–506.
278. Wakefield C.H., Carey P.D., Foulds S., et al Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T cells of patients developing infection after surgery // *Br J Surg*, 1993; 80(2): 205–209.
279. Waldman T.A: The structure, function, and expression of interleukin-2 receptors on normal and malignant lymphocytes // *Science*, 1986; 232: 727–732.
280. Wang F.Z., Dahl H., Ljungman P., et al.Lymphoproliferative responses to human herpesvirus-6 variant A and variant B in healthy adults // *J. Med. Virol.* 1999; 57(2): 134–139.
281. Ward K.N., Leong H.N., Nacheva E.P., et al.Human herpesvirus 6 chromosomal integration in immunocompetent patients results in high levels of viral DNA in blood, sera, and hair follicles // *J Clin Microbiol*. 2006; 44(4): 1571–1574.
282. Ward K.N., Thiruchelvam A.D., Couto-Parada X. Unexpected occasional persistence of high levels of HHV-6 DNA in sera: detection of variants A and B // *J Med Virol*, 2005; 76(4): 563–570.
283. Welch W.D. Halothane reversibly inhibits human neutrophil bacterial killing // *Anesthesiology*, 1981; 55(6): 650–654.
284. Weldon B.C., Mahla M.E., van der Aa M.T., et al. Advancing age and deeper intraoperative anesthetic levels are associated with higher first year death rates // *Anesthesiology*, 2002; 96: A1097.
285. Wheble G.A., Tan E.K., Turner M., et al. Surgeon-administered, intra-operative transversus abdominis plane block in autologous breast reconstruction: A UK hospital experience // *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2013; 66: 1665–1670.
286. Wu G.J., Tai Y.T., Chen T.L., et al. Propofol specifically inhibits mitochondrial membrane potential but not complex I NADH dehydrogenase activity, thus reducing cellular ATP biosynthesis and migration of macrophages // *Ann N Y Acad Sci*, 2005; 1042: 168–176
287. Zhao J., Fan H., Mu G., et al.Detection of human herpesvirus 6 (HHV-6) DNA in salivary glands by the polymerase chain reaction // *Chin Med Sci J*, 1997; 12(2): 126–128.
288. Zhong T., Neinstein R, Massey C., et al. Intravenous fluid infusion rate in microsurgical breast reconstruction: Important lessons learned from 354 free flaps // *Plast Reconstr Surg*, 2011;128: 1153–1160.
289. Zhong T., Wong K.W., Cheng H., et al. Transversus abdominis plane (TAP) catheters inserted under direct vision in the donor site following free DIEP and MS-TRAM breast reconstruction: A prospective cohort study of 45 patients // *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2013; 66: 329–336.

290. Zou J.P., Yamamoto N., Fujii T., et al. Systemic administration of rIL-12 induces complete tumor regression and protective immunity: response is correlated with a striking reversal of suppressed IFN-gamma production by anti-tumor T cells // *Int Immunol*, 1995; 7(7): 1135–1145.
291. Zou P., Isegawa Y., Nakano K., et.al. Human herpesvirus 6 open reading frame U83 encodes a functional chemokine // *J. Virol*, 1999; 73: 5926–5933.

PUBLICĒTIE RAKSTI

1. Vilks A., Doniņa S., Murovska M., Mamaja B. The Effect of Regional and General Anaesthesia on Activation of Beta-Herpesviruses and Immune Response // RSU Collection of Scientific Papers, 2010; 95–99.
2. Vilks A., Doniņa S., Murovska M., Mamaja B. The Differences of Postoperative Period in Association with Beta-Herpesviruses Infection Activation depending on the Anaesthesia Method Applied for Prolonged Reconstructive Surgeries // RSU Collection of Scientific Papers, 2011; 48–53.
3. Vilks A., Rasa S, Krustiņš J., Murovska M., Mamaja B. The Detection of Beta-Herpesvirus Infection in Patients undergoing Reconstructive Flap Surgeries and Its Association with the nearest Postoperative Period Course //Acta Chirurgica Latviensis. 2011; (11): 104–110.
4. Vilks A., Doniņa S., Murovska M., Mamaja B. Detection of Lymphocyte Subsets Related with Activation of Beta-Herpesvirus Infection in Patients Undergoing Long Lasting Microvascular Surgeries // RSU Collection of Scientific Papers, 2012; 18–23.
5. Dzalbs R., Vilks A., Krustiņš J., Boka V., Murovska M., Mamaja B. Perioperatīvi veikto eritrocītu masas transfūziju ietekme uz HHV-6 un HHV-7 infekcijas reaktivāciju pēc ilgstošām mikrovaskulārām operācijām // RSU Zinātniskie raksti 2013; 18–23.
6. Vilks A., Ozols D., Boka V., Murovska M., Mamaja B. Outcomes of surgical correction of congenital tibia pseudarthrosis depending on the activation of HHV-6/HHV-7 viral infection in a child with neurofibromatosis type-1. (Article in Russian) // Anesteziol Reanimatol, 2014; Jan-Feb (1): 61–63.
7. Vilks A., Rasa S., Doniņa S., Murovska M., Mamaja B. Potential effect of two different anaesthesia techniques on the activation of HHV-6 and HHV-7 infect in relationion to changes in total lymphocyte count and peripheral immune cell distribution after prolonged microvascular free flap surgery // Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B, 2014; 68 (3/4): 20–25.

TĒZES UN DALĪBA STARPTAUTISKAJĀS KONFERENCĒS

1. Mamaja B., Doniņa S., Sabeļņikovs O., Vilks A., Stepanovs J., Murovska M. Effect of regional and general anesthesia on immune response in patients undergoing long lasting reconstructive surgery. NewYork School of Regional Anesthesia World Anesthesia Congress. 7–12 March, 2010, Dubai, UAE.
2. Mamaja B., Doniņa S., Sabeļņikovs O., Vilks A., Stepanovs J., Murovska M. Regional anesthesia and activation of beta-herpesviruses and immune response. *Advances and Trends in Regional Anaesthesia*”, 20–22 March, 2010, Riga, Latvia.
3. Vilks A., Doniņa S., Murovska M., Mamaja M. The Effect of regional and general anesthesia on activation of beta-herpesviruses and immune response. European Society of Anaesthesiology Congress, 11–15 July, 2010, Helsinki, Finland.
4. Vilks A., Mamaja B., Doniņa S., Sabeļņikovs O., Murovska M. The Immune Response in Patients undergoing long lasting Reconstructive Surgery, the Role of Regional and General Anesthesia. 5th Baltic International Congress of Anaesthesiology and Intensive Care, 21–23 October 2010, Tartu, Estonia.
5. Vilks A., Rasa S., Doniņa S., Chapenko S., Mamaja B., Murovska M. Effect of General and Regional Anaesthesia on Activation of Beta-Herpesviruses, Immune Response and Postoperative Period in Prolonged Reconstructive Surgeries. Workshop “Immunomodulating human herpesviruses and their role in human pathologies”. 3–14 October, 2011, Riga, Latvia
6. Vilks A., Rasa S., Stepanovs J., Murovska M., Mamaja B. The Detection of Beta-Herpesviruses’ Infection in Patients undergoing Reconstructive Flap Surgeries and Its Association with the Nearest Postoperative Period Course. 15th WFSA World Congress of Anaesthesiologists, 25–30 March, 2012, Buenos Aires, Argentina.
7. Vilks A., Rasa S., Stepanovs J., Murovska M., Mamaja B. The Impact of Anaesthesia Method Applied on Beta-Herpesvirus Infection and nearest Postoperative Period Course. 6th International Baltic Congress of Anaesthesiology and Intensive Care, 18–20. October, 2012, Vilnius, Lithuania.
8. Vilks A., Dzalbs R., Rasa S., Nora-Krūkle Z., Boka V., Mamaja B., Murovska M. The Reactivation of Immunomodulating Beta-Herpesviruses Infection in Patients Undergoing Microvascular Free Flap Surgeries. 5th *European Congress of Virology*, 11–14 September, 2013, Lion, France.
9. Vilks A., Ozols D., Mamaja B. Potential perioperative effects of active HHV-6/HHV-7 infection on the surgical outcome of correction of congenital pseudarthrosis in a

child with neurofibromatosis Type-1. *ESPA 2014, 6th Annual Congress* of the European Society for Paediatric Anaesthesiology. 18–20 September, 2014, Prague, Czech Republic.

10. Vilks A., Stepanovs J., Murovska M., Mamaja B. Potential influence of anaesthesia method applied on postoperative lymphopenia and activation of HHV-6/HHV-7 infection after long lasting free flap surgery. 7th Baltic International Congress in Anaesthesiology and Intensive Care, 04–06 December, 2014, Riga, Latvia.
11. Vilks A., Rasa S., Doniņa S., Murovska M., Mamaja B. Impact of two different anaesthesia methods and duration of surgery on the activation of HHV-6 and HHV-7 infection in relation to changes in immune system. European Society of Anaesthesiology Congress, 28–30 May, 2016, London, UK.

TĒZES UN DALĪBA KONFERENCĒS LATVIJĀ

1. Vilks A., Doniņa S., Sabeļņikovs O., Robiņa S., Murovska M., Mamaja B. Effect of anesthesia on the immune response in patients undergoing long lasting reconstructive surgery. Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference, 2010. gada 18. un 19. marts.
2. Vilks A., Murovska M., Mūrniece S., Mamaja B. Possible association of postoperative period course with beta-herpes virus infection activation and immunosuppression depending on the anaesthesia method applied for prolonged reconstructive surgeries. Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference, 2011. gada 14. un 15. aprīlis.
3. Vilks A. Anestēzijas ietekme uz imūnkompeteci (mutiska uzstāšanās). Latvijas anesteziologu un reanimatologu nacionālais kongress, 2011. gada 9. un 10. decembris, Liepājā.
4. Vilks A., Rasa S., Stepanovs J., Murovska M., Mamaja B. Beta herpesvīrusu noteikšana pacientiem, kuriem tiek veiktas rekonstruktīvās lēveru operācijas un to ietekme uz tuvāko pēcoperācijas periodu. Latvijas anesteziologu un reanimatologu nacionālais kongress, 2011. gada 9. un 10. decembris, Liepājā.
5. Vilks A., Rasa S., Murovska M., Doniņa S., Mamaja B. Detection of lymphocyte subsets related with activation of beta-herpesvirus infection in patients undergoing long lasting microvascular free flap surgeries. Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference, 2012. gada 29. un 30. marts.
6. Vilks A., Rasa S., Dzalbs R., Murovska M., Biruta Mamaja B. The Reactivation of Immunomodulating Beta-Herpesvirus Infection in Patients Undergoing Microvascular Free Flap Surgeries and Its Association with the Surgical Outcome. Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference, 2013. gada 21. un 22. marts.
7. Vilks A., Stepanovs J., Murovska M., Doniņa S., Mamaja B. The detection of relationship between the number of repeated surgeries prior and post long lasting free flap surgeries and active HHV-6 or HHV-7 infection. Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference, 2014. gada 10. un 11. aprīlis.
8. Vilks A., Rasa S., Doniņa S., Murovska M., Mamaja B. Immune-suppressive effect of two different anaesthesia methods and extent of surgery on the status of HHV-6 and HHV-7 infection. Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference, 2016. gada 17. un 18. marts.