



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Alīna Sultanova

BETA-HERPESVĪRUSU
(HHV-6, HHV-7)
INFEKCIJAS NOZĪME
IMŪNĀ DISBALANSA
APSTĀKĻOS

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – virusoloģija

Rīga, 2014

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātes (RSU) Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūtā sadarbībā ar Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Latvijas Transplantācijas Centru un Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Latvijas Onkoloģijas centru un Rīgas 1. slimnīcu.

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. med. asociētā profesore **Modra Murovska**,
RSU Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts,
Latvija

Dr. habil. biol. vadošā pētniece **Svetlana Čapenko**,
RSU Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts,
Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. profesore **Ināra Logina**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. habil. med. profesore **Aija Žileviča**, Medicīnas fakultāte,
Latvijas Universitāte, Latvija

Dr. biol. sci. **Mikolas Mauricas**, Imunotehnoloģijas laboratorijas vadītājs,
Viļņas Imunoloģijas institūts, Lietuva

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2014. gada 3. jūnijā plkst. 15.00
Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas promocijas padomes
atklātā sēdē Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā
un RSU mājas lapā: www.rsu.lv



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



Darbs izpildīts ar ESF projekta “Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē”
Nr. 2009/0147/1DP/1.1.2.1.2./09/IPIA/VIAA/009 atbalstu.

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. med. asociētā profesore **Angelika Krūmiņa**

SATURS

SAĪSINĀJUMI	6
IEVADS	8
Zinātniskā pētījuma novitāte	10
Pētījuma mērķis.....	11
Pētījuma uzdevumi.....	11
Pētījuma hipotēzes	12
Darba struktūra.....	12
1. MATERIĀLI UN METODES	13
1.1. Pacientu grupas	13
1.2. Molekulārās metodes.....	14
1.3. Imunoloģijas metodes	15
1.4. Statistikas analīze	16
2. REZULTĀTI	18
2.1. HHV-6 UN HHV-7 INFEKCIJAS LOMA PĒCTRANSPLANTĀCIJAS KOMPLIKĀCIJU ATTĪSTĪBĀ.....	18
2.1.1. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne nierēs transplantāta recipientiem	18
2.1.2. Imūnkompetento šūnu populāciju analīze atkarībā no limfocītu skaita nierēs transplantāta recipientiem	19
2.1.3. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne nierēs transplantāta pacientiem ar un bez limfopēnijas	20
2.1.4. Imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinošā analīze atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas nierēs transplantāta	

slimniekiem ar un bez limfopēnijas	22
2.1.5. Komplikāciju attīstība nieres transplantāta saņēmējiem	23
2.2. HHV-6 UN HHV-7 INFEKCIJAS LOMA KUŅĢA UN ZARNU TRAKTA	
VĒŽA KLĪNISKAJĀ ATTĪSTĪBĀ	24
2.2.1. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi.....	24
2.2.2. Imūnkompetento šūnu populāciju analīze atkarībā no limfocītu skaita kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem	25
2.2.3. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem ar un bez limfopēnijas.....	27
2.2.4. Imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinošā analīze kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem ar un bez limfopēnijas atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas.....	28
2.2.5. Proinflatāro citokīnu līmeņi kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem ar un bez limfopēnijas	29
2.2.6. Klīniskais iznākums pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas	30
2.3. HHV-6 UN HHV-7 INFEKCIJAS LOMA AIT ATTĪSTĪBĀ.....	31
2.3.1. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne pacientiem ar AIT	31
2.3.2. Imūnkompetento šūnu populāciju analīze pacientiem ar AIT atkarībā no vīrusu infekcijas	33
2.3.3. HHV-6 un HHV-7 infekciju klātbūtne vairogdziedzera audos.....	34
2.3.4. HHV-6 genoma secību klātbūtnes salīdzinājums vairogdziedzera audos un asins paraugos	35
2.3.5. HHV-6 slodze perifēro asiņu un vairogdziedzera audu DNS paraugos	36

2.4. SALĪDZINOŠĀ ANALĪZE PACIENTIEM AR DAŽĀDIEM IMŪNSISTĒMAS DARBĪBAS TRAUCĒJUMIEM	38
2.4.1. Beta-herpesvīrusu infekciju biežuma salīdzinājums	38
2.4.2. Imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinājums atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas	40
3. DISKUSIJA	44
4. SECINĀJUMI	49
5. REKOMENDĀCIJAS	50
6. PATEICĪBAS	51
7. PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU	52
8. ATSAUCES	57

SAĪSINĀJUMI

AIDS – iegūts imūndeficīta sindroms
AIT – autoimūns tireoidīts
TI – ticamības intervāls
CMV – citomegalovīruss
DNA – dezoksiribonukleīnskābe
FACS – fluorescences aktivētā šūnu šķirošana
HHV-6 – cilvēka herpesvīruss 6
HHV-7 – cilvēka herpesvīruss 7
IFA – netiešo fluorescējošo antivielu tests
IgG – imūnglobulīns G
IgM – imūnglobulīns M
IL-1 β – interleikīns-1 beta
IL-2 – interleikīns -2
IL-6 – interleikīns -6
Leu – leikocīti
Ly – limfocīti
Mo – monocīti
MS – izkaisītā skleroze
nPĶR – polimerāzes ķēdes reakcija ar iekšējo praimēšanu
OR – varbūtību attiecība
P – p vērtība
PBMC – perifēro asiņu mononukleārās šūnas
PCR – polimerāzes ķēdes reakcija
TG – tireoglobulīns
TNF- α – tumora nekrozes faktors
TPO – tireoperoksidāze

TSH – tireotropais hormons

IEVADS

Liela daļa hronisku slimību šodien jau diezgan pārliecinoši un droši tiek saistītas ar infekcijas aģentu, to skaitā vīrusu klātbūtni un ietekmi. Vairumā gadījumu tie ir vīrusi, kas izsauc persistentu infekciju un kuriem pašiem piemīt spēja ietekmēt organisma imūnsistēmu. Pēdējā laikā šiem vīrusiem tiek pievērsta aizvien lielāka uzmanība, ko nosaka vairāki faktori:

- šie vīrusi ir plaši izplatīti pēc primārās infekcijas un saglabājas persistentas infekcijas formā visu dzīves laiku;
- tie var aktivēties imūnsupresējošu faktoru ietekmē;
- tiem pašiem piemīt imūnsupresējošas īpašības un tie var izmainīt organisma imūno stāvokli;
- tie bieži rada smagas komplikācijas gadījumos, kad nepieciešama medikamentoza imūnsupresija (orgānu un cilmes šūnu transplantācija);
- tie izraisa dažādas komplikācijas uz pamatslimības radītā imūnsupresijas fona (onkoloģiskajiem slimniekiem);
- tie ierosina hroniskus iekaisīgus procesus, kas var novest pie autoimūnām patoloģijām un neoplastiskām izmaiņām;
- vienlaicīgas infekcijas gadījumā tie var viens otru aktivēt (*Sprengers and Janssen, 2005; Mocarski Jr, 2002; Lucas and McFadden, 2004*).

Pie iepriekšminētajiem imūnmodulējošajiem vīrusiem ir pieskaitāmi arī limfotropie cilvēka herpesvīrusi – cilvēka herpesvīruss 6 un 7 (HHV-6 un HHV-7), kas pieder pie *Betaherpesvirinae* apakšgrupas un *Roseolovirus* ģints.

HHV-6 pirmo reizi tika izolēts 1986. gadā no interleikīna-2 (IL-2)-stimulētām perifēro asiņu mononukleārajām šūnām, iegūtām no AIDS slimniekiem un pacientiem ar limfoproliferatīvām slimībām. HHV-6 ir

aprakstīti divi varianti – HHV-6A un HHV-6B, pašlaik šie divi HHV-6 varianti tiek klasificēti kā atsevišķas vīrusa sugas.

Ņemot vērā HHV-6 īpašības un plašo izplatību, tiek uzskatīts, ka šī vīrusa infekcija ir asociēta ar dažādu klīnisko stāvokļu un slimību etiopatogēnēzi. HHV-6 pašreizējais iedalījums divās atsevišķās sugās (HHV-6A un HHV-6B) tikai padziļina interesi un rada papildjautājumus saistībā ar minēto vīrusinfekciju iesaisti hronisku slimību attīstībā. HHV-6A infekciju biežāk konstatē pacientiem ar izkaisīto sklerozi (MS), hronisko noguruma sindromu (CFS), iegūto imūndeficīta sindromu (AIDS) un vēža slimniekiem, savukārt HHV-6B izraisa *Roseola infantum*, drudzi un encefalītu zīdaiņiem. Pacientiem pēc transplantācijas HHV-6B infekcijas reaktivācija ir pamatā tādu komplikāciju, kā encefalīta, pneimonijas un aknu bojājumu attīstībā. Pacientiem pēc nieres transplantācijas HHV-6 infekcija tiek saistīta ar hroniskas allotransplantāta nefropātijas attīstību (*Chapenko et al.*, 2009), kā arī ar transplantāta atgrūšanu (*Caiola et al.*, 2012). Ilgu laiku tikai HHV-6B infekciju saistīja ar nieres pēctransplantācijas komplikāciju attīstību, jo šis vīruss tika konstatēts nieres transplantātu mononukleārajās šūnās (*Helantera et al.*, 2008), un to bieži atrada nieres transplantāta recipientu gastrointestinālajā traktā (*Lempinen et al.*, 2012). Tomēr nesenie pētījumi ir parādījuši HHV-6A virēmijas dominēšanu nieres transplantācijas pacientu serumā/plazmā (*Csoma et al.*, 2011).

Dati par HHV-6 saistību ar dažādām ļaundabīgām slimībām ir ļoti pretrunīgi. Lai gan daudzi pētījumi HHV-6 (īpaši HHV-6B) infekciju saista ar Hodžkina limfomas mezglainās sklerozes apakštipu (*Lacroix et al.*, 2010; *Siddon et al.*, 2012) un leukēmiju (*Ogata et al.*, 2011), praktiski nav pētījumu par HHV-6 saistību ar solīdo audzēju attīstību. Tajā pašā laikā dažas pētnieku grupas uzskata, ka HHV-6 piemīt onkogēns potenciāls, pamatojot to ar faktu, ka ar HHV-6 transfecētas šūnas izraisa audzējus pelēm (*Puri et al.*, 1991).

Nesenie pētījumi ir parādījuši iespējamo HHV-6 saistību ar dažādu autoimūno slimību attīstību, kā autoimūno akūto hepatītu (*Grima et al.*, 2008) un autoimūno hemolītisko anēmiju/neitropēniju (*Yagasaki et al.*, 2010). 2012.gada pētījumu dati norāda uz HHV-6A saistību ar bieži sastopama autoimūna tireoidīta (AIT) – Hašimoto tireodīta attīstību (*Caselli et al.*, 2012), taču vēl aizvien ir nepieciešami papildus pierādījumi, it īpaši attiecībā uz HHV-6A un HHV-6B izplatību.

HHV-7 infekcijas klīniskā nozīme ir vāji dokumentēta, bet iespējams tā ir saistīta ar *Pityriasis rosea* attīstību (*Black et al.*, 1999; *Rebora et al.*, 2010) un šis vīruss var darboties arī kā HHV-6 aktivētājs un CMV kofaktors pēctransplantācijas komplikāciju attīstībā (*Chapenko et al.*, 2001; *Chan et al.*, 2004; *Holden and Vas*, 2007; *Zawilinska et al.*, 2011).

Šajā darbā ir pētīta HHV-6 un HHV-7 vīrusu infekcijas saistība ar hronisku slimību un pēctransplantācijas komplikāciju attīstību, kā arī to nozīme imūnās sistēmas disfunkcijas padziļināšanā. Paralēli ir iegūta informācija par HHV-6A, HHV-6B un HHV-7 infekcijas sastopamību dažādās pacientu grupās Latvijā.

Zinātniskā pētījuma novitāte

Pirmo reizi tiek pētīts HHV-6 un HHV-7 infekcijas reaktivācijas biežums trīs atsevišķās pacientu grupās ar imūnās sistēmas traucējumiem, ko izraisījuši atšķirīgi faktori – imūnsupresīvā terapija, pamatslimība un autoimūnais process, kā arī šo infekciju saistība ar slimību klīnisko gaitu.

Ir pierādīts un statistiski apstiprināts limfopēnijas padziļināšanās risks pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi aktīvas HHV-6 un HHV-7 infekcijas gadījumā.

Ir parādīta beta-herpesvīrusu HHV-6 un HHV-7 infekcijas saistība ar AIT attīstību.

Ir veikta imūnkompetento šūnu populāciju izmaiņu un imūnsupresijas dziļuma salīdzinošā analīze starp trīs dažādām pacientu grupām atkarībā no HHV-6 un HHV-7 persistētas infekcijas aktivitātes fāzes.

Pētījuma mērķis

Pētījuma mērķis bija noskaidrot beta-herpesvīrusu HHV-6 un HHV-7 infekcijas nozīmi hronisku slimību patogēnēzē, klīniskās gaitas un pēctransplantācijas komplikāciju attīstībā, ņemot vērā šo vīrusu spēju izmainīt saimnieka organisma un patogēna mijiedarbību.

Pētījuma uzdevumi

1. Izveidot pacientu grupas ar imūnsistēmas darbības traucējumiem, ko izraisa dažādi faktori:
 - a. Nieres transplantāta recipienti ar imūnsupresīvo terapiju.
 - b. Kuņģa un zarnu trakta vēža pacienti ar pamatslimības izraisītu imūnsupresiju.
 - c. Pacienti ar autoimūno tireoidītu.
2. Izpētīt beta-herpesvīrusu HHV-6 un HHV-7 infekcijas klātbūtni un aktivitātes fāzi pacientiem ar imūnās sistēmas traucējumiem, ko izraisa dažādi faktori.
3. Pārbaudīt šūnu imunitāti nieres transplantāta recipientiem, pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi un pacientiem ar AIT.

4. Noskaidrot saistību starp beta-herpesvīrusu HHV-6 un HHV-7 infekciju un pēctransplantācijas komplikāciju attīstību, hroniskas slimības klīnisko gaitu un autoimūno procesu.
5. Veidot pacientu datu bāzi, iekļaujot klīniskos un laboratorijas datus.

Pētījuma hipotēzes

1. HHV-6 un HHV-7 infekcijas reaktivācija biežāk sastopama pacientiem ar imūnsistēmas disfunkciju (imūnsupresiju) nekā kontroles grupas indivīdiem.
2. HHV-6 un HHV-7 reaktivācija padziļina imūnsistēmas disbalansu.
3. Augstāka vīrusa slodze vairogdziedzera audos nekā perifērajās asinīs norāda uz vairogdziedzeri, kā iespējamo HHV-6 latences vietu, kam savukārt var būt nozīme vairogdziedzera autoimūno patoloģiju attīstībā.

Darba struktūra

Promocijas darbs ir uzrakstīts angļu valodā. Tas sastāv no daļām: ievada, zinātniskā pētījuma novitātes, mērķa, uzdevumiem, hipotēzes, literatūras pārskata, materiāliem un metodēm, rezultātiem, diskusijas, secinājumiem un ieteikumiem. Darbs ir uzrakstīts uz 124 lapām ar 23 tabulām, to ilustrē 21 attēls. Literatūras sarakstā iekļautas atsauces uz 209 literatūras avotiem. Šī darba rezultāti atspoguļoti recenzējamos izdevumos, publicēti 9 rakstos un prezentēti 17 vietēja un starptautiska mēroga konferencēs/kongresos.

1. MATERIĀLI UN METODEDES

1.1. Pacientu grupas

Pētījumā tika iekļautas trīs pacientu grupas – pacienti, kas ārstēti ar imūnsupresīviem medikamentiem (nieres transplantāta recipienti, $n = 47 - 20$ sievietes un 27 vīrieši, vidējais vecums 49; no 28 līdz 78 gadiem); pacienti ar imūnās sistēmas traucējumiem, kas saistīti ar pamatslimību (pacienti ar kuņģa un zarnu trakta vēzi, $n = 65 - 42$ sievietes un 23 vīrieši, vidējais vecums 54; no 39 līdz 85 gadiem) un pacienti ar autoimūnām slimībām (pacienti ar AIT, $n = 44 - 43$ sievietes un viens vīrietis, vidējais vecums 45; no 25 līdz 78 gadiem). Pētījums tika veikts ar Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas apstiprinājumu un visi tajā iesaistītie dalībnieki sniedza savu apzinātu piekrišanu pirms pārbaudes.

Kontroles grupā tika iekļauti praktiski veseli asins donori ($n = 150 - 77$ sievietes un 73 vīrieši, vidējais vecums 37; no 18 līdz 65 gadiem). Vairogdziedzera autopsijas paraugi no 41 autoptāta ($n = 41 - 11$ sievietes un 30 vīrieši, vidējais vecums 52; no 41 līdz 78 gadiem) bez jebkādam patoloģiskām makro vai mikro izmaiņām tika izmantoti kā audu kontroles operētu vairogdziedzeru paraugu pētīšanā pacientiem ar autoimūnu tireoidītu.

Pētījums tika veikts ar Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas apstiprinājumu.

1.2. Molekulārās metodes

DNS izolēšana no perifēro asiņu un audu paraugiem: Visi asiņu un vairogdziedzera audu DNS paraugi tika izolēti izmantojot fenola–hloroforma ekstrakcijas metodi.

DNS izolēšana no plazmas paraugiem: DNS izdalīšanai no šūnām brīvas asins plazmas, tika izmantots QIAamp Blood komplekts (*QIAGEN, Hilden, Vācija*). Pirms DNS attīrīšanas plazmas paraugi tika apstrādāti ar DNase I (*Fermentas, Lietuva*).

DNS kvalitātes un kvantitātes kontrole: Saskaņā ar ražotāja norādījumiem, tika ņemti 2µl DNS šķīduma ūdenī un koncentrācija (mērvienība – ng/µl) mērīta, izmantojot spektrofotometru (*NanoDrop 1000*) pie viļņa garuma 260nm. Parauga tīrības kontrolei tika izmantots 260/280nm attiecības diapazons, kam ir jābūt ne mazākam par 1,8. Lai noteiktu no asinīm un audiem izolētās DNS kvalitāti un izslēgtu plazmas DNS piesārņojumu ar šūnu DNS piemaisījumu, tika izmantota β-globīna PĶR ar atbilstošiem praimeriem (*Vanndame et al., 1995*).

Polimerāzes ķēdes reakcija ar iekšējo praimēšanu (nPĶR): nPĶR metode tika izmantota, lai noteiktu vīrusu genoma secību klātbūtni DNS, kas izolēta no pilnām asinīm un šūnām brīvas asins plazmas (attiecīgi, persistentas infekcijas un persistentas infekcijas aktīvās fāzes marķieri). Virusālās DNS PĶR amplifikācija tika veikta izmantojot 1 µg pilno asiņu DNS vai 10 µg plazmas DNS (kas atbilst 200 µl plazmas). HHV-6 un HHV-7 genoma secības klātbūtne DNS paraugos tika noteikta, vadoties pēc *Secchiero et al., 1995* un *Berneman et al., 1992* (atbilstoši). Pozitīvās kontroles (HHV-6 un HHV-7 genoma DNS; *Advanced Biotechnologies Inc, Kolumbija, MD, ASV*) un negatīvās kontroles (DNS iegūta no praktiski veselīgiem HHV-6 un HHV-7

negatīviem asins donoriem un ūdens kontrole bez DNS matricas) tika iekļautas katrā eksperimentā.

HHV-6 A un HHV-6B noteikšana ar nPQR un Hind III restrikciju: HHV-6A un HHV-6B genoma secību klātbūtnes noteikšana tika veikta vadoties pēc *Lyll* un *Cubie*, 1995. Paredzamais PQR produktu garums bija: 163bp pēc marķiera Puc 19 DNS/ MspI (Hpa2) Marker23 (*MBI Fermantas*, Lietuva), rezultāti tika vizualizēti un apstrādāti ar BioSpectrum 610 *MultiSpectral Imaging System*, ASV.

Kvantitatīvā reālā laika PQR: HHV-6 vīrusa slodze pilno asiņu un audu DNS paraugos no pacientiem ar HHV-6 persistentu infekciju tika noteikta izmantojot HHV-6 *Real-Time Alert Q-PQR* reaktīvu komplektu (*Nanogen Advanced Diagnostics, Buttigliera Alta, Itālija*) un *Applied Biosystems 7500 Real-time PQR* sistēmu (*Applied Biosystems, Carlsbad, CA, ASV*) saskaņā ar ražotāja instrukcijām.

Savāktie dati tika apstrādāti un analizēti ar specializētu ABI 7500 sistēmas programmatūru. Vīrusu slodzi noteica aprēķinot datus, lai iegūtu vīrusa kopijas uz 10×6 šūnu.

1.3. Imunoloģijas metodes

Vīrusu specifisko antivielu noteikšana: Iegūto PQR rezultātu apstiprināšanai, plazmā tika noteiktas HHV-6 specifiskās IgG klases antivielas, izmantojot komerciālu ELISA reaktīvu komplektu (*Panbio, Sinnamon Park, QLD, Australia*).

Lai noteiktu HHV-7-specifisko IgG klases antivielu klātbūtni plazmas paraugos, tika izmantots IFA darba komplekts (*EUROIMMUN, Vācija*) pēc ražotāja izstrādāta protokola. Sagatavotie paraugi tika analizēti ar

imunofluorescences mikroskopu "Nikon Eclipse 80i" 400× palielinājumā izmantojot vizualizācijas programmu "Lucia Image Analysis Systems" Lucia 5.0 versiju.

Auto-antivielu noteikšana: Lai noteiktu auto-antivielas pret tireoperoksidāzi (TPO), pret tireoglobulīnu (Tg) un pret tireotropa hormona (TSH) receptoru tika izmantoti ELISA reaktīvu komplekti (*EUROIMMUN*, Vacija).

Analīze citokīnu noteikšanai: Lai noteiktu audzēja nekrozes faktora (TNF)- α , interleikīna (IL)-1 β un IL-6 līmeni plazmā, tika izmantoti ELISA reaktīvu komplekti (Pierce Biotechnology, Rokforda, IL, ASV, un AviBion, Helsinki, Somija). ELISA testu jutība IL-1 β noteikšanai bija < 3 pg/ml un TNF- α un IL-6 noteikšanai - < 2 pg/ml. Šķīstošā IL-2 receptora (sIL-2R) ekspresijas līmenis tika mērīts izmantojot hemiluminiscences komerciālo komplektu (*CLIA, Siemens, Los Angeles, CA, ASV*) saskaņā ar ražotāja ieteikumiem (testa jutība U/ml). Visi paraugi tika testēti dublikātā.

FACS analīze un sortēšana: Perifēro asiņu mononukleāro šūnu (PBMC) analīzešanai un sortēšanai tika izmantots BD FACSAria II plūsmas citometrs (ASV) un BD FACSDiva programmatūra. Galveno limfocītu subpopulāciju iezīmēšanai un atlasīšanai tika izmantotas ar dažādiem florohromiem (anti-CD3-FITC, CD4-PerCP-Cy7, CD8-PE, CD16-V450, CD19 APC, CD45-V500, CD56-V450 un CD95-PerCP-Cy 5.5) konjugētas komerciālas monoklonālās antivielas.

1.4. Statistikas analīze

Visi aprēķini tika veikti, izmantojot *MedCalc Software version 12.3* (Ostende, Beļģija). Statistiskās atšķirības persistentas HHV-6 un HHV-7

infekcijas latentas un aktīvas fāzes klātbūtnes noteikšanā tika novērtētas ar Fišera precīzo testu. Plazmas citokīnu līmenis tika izteikts kā vidējā vērtība \pm SD. Imunoloģiskie parametri tika analizēti izmantojot t-testu. Regresijas analīze tika izmantota, lai novērtētu nepārtraukti mainīgo lielumu vērtības; $p < 0,05$ tika uzskatīts par būtisku.

2. REZULTĀTI

2.1. HHV-6 un HHV-7 infekcijas loma pēctransplantācijas komplikāciju attīstībā

2.1.1. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne nierēs transplantāta recipientiem

Persistenta beta-herpesvīrusu infekcija tika konstatēta 42 no 47 (89%) nierēs transplantāta recipientiem. Persistenta HHV-6 infekcija tika atrasta 15 no 47 (32%) recipientiem, bet persistenta HHV-7 infekcija – 40 no 47 (85%) recipientiem, kas ir statistiski būtiski augstāk ($p = 0,02$) nekā veseliem asins donoriem (101 no 150 (67%). Tikai HHV-6 persistenta infekcija tika konstatēta diviem no 47 (2%) recipientiem, turpretī tikai HHV-7 infekcija – 27 no 47 (57%) recipientiem. Persistenta HHV-6 + HHV-7 vienlaicīga infekcija tika atrasta 13 no 47 (28%) nierēs transplantāta recipientiem.

Tikai HHV-6 latentā infekcija tika konstatēta vienam no diviem, tikai HHV-7 latentā infekcija – 16 no 27 (59%) un HHV-6 + HHV-7 vienlaicīga latentā infekcija – 5 no 13 (39%) nierēs transplantāta recipientiem. Vīrusu infekcijas aktīvo fāzi biežāk atrada pacientiem ar dubulto HHV-6 + HHV-7 infekciju (8 no 13; 62%) nekā nierēs transplantāta recipientiem tikai ar HHV-6 infekciju (viens no diviem) un tikai ar HHV-7 infekciju (11 no 27; 41%). Visos HHV-6 pozitīvajos paraugos tika noteikta HHV-6B suga. Nebija nozīmīgas atšķirības latentas HHV-6 infekcijas klātbūtnē nierēs transplantāta recipientiem un veseliem indivīdiem, taču latentas HHV-7 infekcijas klātbūtne bija ievērojami augstāka ($p = 0,006$) praktiski veseliem asins donoriem (85%) nekā nierēs transplantāta recipientiem (59%).

HHV-6 un dubulta HHV-6 + HHV-7 aktīva infekcija tika konstatēta tikai nierēs transplantāta recipientiem (attiecīgi, viens no diviem un 8 no 13). Aktīvas HHV-7 infekcijas biežums bija ievērojami augstāks ($p = 0,006$) nierēs transplantāta recipientiem (41%) nekā veseliem asins donoriem (14%) (2.1. tabula).

HHV-6 genomiskās secības klātbūtne tika konstatēta 15/47 (32%) nierēs transplantāta recipientiem, anti-HHV-6 specifisko IgG klases antivielu klātbūtne – 36/47 (77%) pacientiem.

2.1. tabula

Beta-herpesvīrusu infekcijas klātbūtne nierēs transplantāta recipientiem un praktiski veselām asins donoriem

	Persistenta HHV-6 (latenta/aktīva) infekcija	Persistenta HHV-7 (latenta/aktīva) infekcija	Persistenta HHV-6 + HHV-7 (latenta/aktīva) infekcija	Bez HHV-6 vai HHV-7 infekcijas
Nierēs transplantāta recipienti (n=47)	2 (4,3%) (1/1)	27 (57%) (16/11)	13 (27,6%) (5/8)	5 (11%)
Asins donori (n=150)	13 (8,6%) (13/0)	83 (55%) (71/12)	30 (20%) (30/0)	24 (16%)

2.1.2. Imūnkompetento šūnu populāciju analīze atkarībā no limfocītu skaita nierēs transplantāta recipientiem

Atkarībā no limfocītu skaita pacientus var sadalīt divās grupās: I grupa (pacienti bez limfopēnijas; limfocītu skaits > 1400 šūnu/ 1mm^3 perifēro asiņu) un II grupa (pacienti ar limfopēniju; limfocītu skaits < 1400 šūnu/ 1mm^3 /peri-

fēro asiņu). Vidējais absolūtais limfocītu skaits I grupas pacientiem bija divas reizes (50%) augstāks nekā II grupas pacientiem – attiecīgi $1890 \pm 440 \times 10^6/L$ un $850 \pm 410 \times 10^6/L$. I un II grupas pacientu limfocītu subpopulāciju salīdzinošā analīze uzrādīja ievērojamu ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD38^+$, $CD16^+$, $CD19^+$, $CD25^+$ un $CD95^+$) šūnu skaita samazināšanos II grupas pacientiem – aptuveni divas reizes, salīdzinot ar I grupu (2.2. tabula).

2.2. tabula

Imūnkompetento šūnu populāciju absolūtais skaits I un II pacientu grupā

Parametri	Grupa I Ly > 1400 (n = 17)		Grupa II Ly < 1400 (n = 30)		p ≤ 0,05
	Absolūtais skaits ± SD	Skaits %	Absolūtais skaits ± SD	Skaits %	
Leu	8450 ± 2490		6950 ± 2370		0,04
Ly	1890 ± 440	24,92	850 ± 410	12,57	< 0,0001
CD3 ⁺	1510 ± 390	80,12	620 ± 400	67,43	< 0,0001
CD4 ⁺	630 ± 300	40,53	230 ± 190	31,43	< 0,0001
CD8 ⁺	580 ± 210	38,35	220 ± 200	32,03	< 0,0001
CD38 ⁺	520 ± 350	26,18	270 ± 170	31,77	0,002
CD16 ⁺	150 ± 70	10,00	90 ± 50	17,23	0,001
CD19 ⁺	130 ± 60	7,00	70 ± 50	9,50	0,0006
CD95 ⁺	850 ± 440	43,71	400 ± 270	44,83	0,0001
CD25 ⁺	80 ± 40	4,29	30 ± 30	3,10	< 0,0001
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,24 ± 0,70		1,18 ± 0,70		

2.1.3. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne nierēs transplantāta pacientiem ar un bez limfopēnijas

Persistenta HHV-6 infekcija tika konstatēta 8 no 17 (47%) I grupas pacientiem un 7 no 30 (23%) II grupas pacientiem. Turpretī persistenta HHV-7 infekcija tika atrasta 15 no 17 (88%) I grupas pacientiem un 25 no 30 (83%) II

grupas pacientiem. Tikai HHV-6 persistentas infekcijas klātbūtne tika konstatēta diviem no 30 (6,6%) pacientiem ar limfopēniju. Biežāka HHV-7 persistentas infekcijas klātbūtne tika novērota II grupas pacientiem salīdzinājumā ar I grupu (attiecīgi, 66% un 41%). Tomēr augstāka vienlaicīgas HHV-6 + HHV-7 persistentas infekcijas sastopamība tika atrasta nieres transplantāta recipientiem bez limfopēnijas (8/17, 47%) salīdzinājumā ar II grupu (5/30, 17%).

Tikai HHV-6 latentā infekcija tika detektēta vienam pacientam no II grupas (ar limfopēniju), taču HHV-7 latentas infekcijas biežuma ziņā starp abām grupām netika konstatēta būtiska atšķirība (attiecīgi: 57% I grupā un 60% II grupā;). Dubultā HHV-6 + HHV-7 latentā infekcija biežāk bija sastopama I grupas pacientiem (50%) salīdzinājumā ar II grupas pacientiem (20%).

Tikai HHV-6 aktīvas infekcijas klātbūtne tika konstatēta vienam nieres transplantāta recipientam ar limfopēniju, tomēr HHV-7 aktīvas infekcijas biežuma ziņā nozīmīga atšķirība starp abām grupām netika atrasta (attiecīgi 43% I grupā un 40% II grupā). Dubultas HHV-6 + HHV-7 aktīvās infekcijas līmenis bija augstāks pacientiem no II grupas (80%) nekā no I grupas (50%) (2.3. tabula).

**Beta-herpesvīrusu (HHV-6 un HHV-7) infekcijas klātbūtne I un II grupas
pacienti**

	Persistenta HHV-6 (latenta/ aktīva) infekcija	Persistenta HHV-7 (latenta/ aktīva) infekcija	Persistenta HHV-6 + HHV-7 (latenta/ aktīva) infekcija	Bez HHV-6 vai HHV-7 infekcijas
I pacientu grupa (n = 17)	0 (0%)	7 (41%) (4/3)	8 (47%) (4/4)	2 (12%)
II pacientu grupa (n = 30)	2 (6,6%) (1/1)	20 (66%) (12/8)	5 (17%) (1/4)	3 (10%)

**2.1.4. Imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinošā analīze atkarībā no
beta-herpesvīrusu infekcijas nierēs transplantāta slimniekiem ar un bez
limfopēnijas**

I un II grupas pacientu imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinošā analīze tika veikta atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas. Katra grupa tika sadalīta trijās apakšgrupās: nierēs transplantāta recipienti bez infekcijas, ar latentu un ar aktīvu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju. Abu grupu pacientiem ar latentu vīrusu infekciju šūnu skaitam visās imūnkompetento šūnu populācijās bija tendence palielināties ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD38^+$, $CD16^+$, $CD19^+$, $CD25^+$ un $CD4^+/CD8^+$ attiecība) salīdzinājumā ar apakšgrupām bez HHV-6 un HHV-7 infekcijas un ar aktīvu vīrusu infekciju.

Lielākais šūnu skaita samazinājums imūnkompetento šūnu populācijās tika konstatēts II grupas pacientiem ar aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju, īpaši samazinājās absolūtais limfocītu skaits un $CD38^+$ šūnu skaits (attiecīgi, līdz

21% un 56%) salīdzinājumā ar apakšgrupām ar latentu vīrusu infekciju. Lai gan II grupas pacientiem ar aktīvu HHV-6 un HHV-7 infekciju bija ievērojami lielāks ($p = 0,001$) CD38⁺ šūnu skaita samazinājums (līdz 56%), salīdzinot ar latentu vīrusu infekcijas apakšgrupu, I grupas pacientiem ar aktīvu vīrusu infekciju tika konstatēts būtisks ($p = 0,0001$) šūnu skaita samazinājums CD8⁺ subpopulācijā (līdz 80%). Arī starp abām latentas un aktīvas vīrusu infekcijas grupām tika konstatētas būtiskas izmaiņas CD95⁺ subpopulācijas šūnu skaitā.

2.1.5. Komplikāciju attīstība nierēs transplantāta saņēmējiem

Komplikāciju attīstība tika novērota 14 no 47 (30%) nierēs transplantāta recipientiem. Pieciem pacientiem bija akūta transplantāta atgrūšana, četriem pacientiem – mikrobiālas dabas infekcijas, bet pārējiem melanoma, sepse, CMV slimība, hroniska allotransplantāta nefropātija un neidentificētas etioloģijas akūts hepatīts. Analizējot pacientus ar komplikācijām saistībā ar beta-herpesvīrusu infekciju, tika konstatēts, ka 10 no 14 (71%) nierēs transplantāta recipientiem ar komplikācijām bija aktīva HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija un tikai 4 no 14 (29%) bija latentā infekcija. Loģiskā regresijas analīze arī parādīja, ka pacientiem ar aktīvu vīrusu infekciju, ir lielāks risks komplikāciju attīstībai (OR 4,5; 95% TI 1,12–18,13; $p = 0,03$) nekā ar latentu vīrusu infekciju (OR 0,22; 95% TI 0,06–0,89; $p = 0,03$).

2.2. HHV-6 un HHV-7 infekcijas loma kuņģa un zarnu trakta vēža klīniskajā attīstībā

2.2.1. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi

Beta-herpesvīrusu HHV-6 un HHV-7 persistenta infekcija tika konstatēta 44 no 65 (68%) pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi un, attiecīgi, 126 no 150 (84%) praktiski veselīem asins donoriem.

HHV-6 persistenta infekcija tika konstatēta 16 no 65 (25%) pacientiem un HHV-7 infekcija 41 no 65 (63%) pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi, kas sakrīt ar tās biežumu veselīem asins donoriem [attiecīgi, 43 no 150 (29%) un 101 no 150 (67%)].

Tikai HHV-6 un HHV-7 infekcijas klātbūtne bija biežāka praktiski veselīem asins donoriem salīdzinājumā ar kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem (attiecīgi, 8,6%, 55% un 4,6%, 43%). Taču kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem un praktiski veselīem asins donoriem bija vienāds dubultas HHV-6 + HHV-7 persistentas infekcijas biežums. Tikai HHV-6, HHV-7 un HHV-6 + HHV-7 latentas infekcijas biežums bija lielāks praktiski veselīem asins donoriem nekā kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem (2.4. tabula).

Tomēr HHV-6 aktīva infekcija tika konstatēta tikai kuņģa un zarnu trakta vēža slimniekiem (vienam no diviem). HHV-7 infekcijas aktivācija tika detektēta 12 no 83 (15%) praktiski veselīem asins donoriem, pretstatā 7 no 28 (25%) kuņģa un zarnu trakta vēža pacientu. Dubultas HHV-6+HHV-7 aktīvas infekcijas klātbūtne tika konstatēta tikai kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem – 6 no 13 (46%) (2.4. tabula).

Lai gan HHV-6 genoma secība tika atrasta 16 no 65 (25%) kuņģa un zarnu trakta vēža slimniekiem, anti-HHV-6 specifisko IgG klases antivielu

klātbūtne tika konstatēta 33 no 65 (51%) pacientiem. Ar nPKR HHV-7 genoma secības klātbūtne tika atrasta 63% pacientu, tomēr HHV-7 specifisko IgG klases antivielu esamība tika noteikta 75% slimnieku.

Visiem HHV-6 pozitīvajiem pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi tika noteikta HHV-6B suga.

2.4. tabula

Beta-herpesvīrusu infekcijas klātbūtne kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem

	Persistenta HHV-6 (latenta/aktīva) infekcija	Persistenta HHV-7 (latenta/aktīva) infekcija	Persistenta HHV-6 + HHV-7 (latenta/aktīva) infekcija	Bez HHV-6 vai HHV-7 infekcijas
Pacienti ar kuņģa zarnu trakta vēzi (n = 65)	3 (4,6%) (2/1)	28 (43%) (21/7)	13 (20%) (7/6)	21 (32%)
Praktiski veseli asins donori (n = 150)	13 (8,6%) (13/0)	83 (55%) (71/12)	30 (20%) (30/0)	24 (16%)

2.2.2. Imūnkompetento šūnu populāciju analīze atkarībā no limfocītu skaita kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem

Atkarībā no limfocītu skaita pacientus var sadalīt divās grupās: I grupa (pacienti bez limfopēnijas; limfocītu skaits > 1400 šūnu/1mm³ perifēro asiņu) un II grupa (pacienti ar limfopēniju; limfocītu skaits < 1400 šūnu 1mm³/perifēro asiņu). Imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinošā analīze

abās kuņģa un zarnu trakta vēža pacientu grupās parādīja gandrīz visu rādītāju būtiskas atšķirības. Vidējais leikocītu skaits I grupā ($7910 \pm 1960 \times 10^6/L$) bija ($p = 0,002$) augstāks (27%) salīdzinājumā ar II grupu ($5830 \pm 2210 \times 10^6/L$). Vidējais absolūtais limfocītu skaits I grupā bija divas reizes (50%) lielāks nekā II grupā ($2270 \pm 700 \times 10^6/L$; $1140 \pm 210 \times 10^6/L$, attiecīgi, $p = 0,0001$).

Limfocītu apakšgrupu salīdzinošā analīze starp I un II grupu ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD38^+$, $CD16^+$, $CD19^+$, $CD25^+$ un $CD95^+$) uzrādīja ievērojamu imunoloģisko parametru samazināšanos II grupā – aptuveni divas reizes, salīdzinot ar I grupu (2.5. tabula).

2.5. tabula

Imūnkompetento šūnu populāciju absolūtais skaits I un II pacientu grupā

Parametri	Grupa I; Ly > 1400 (n = 35)		Grupa II; Ly < 1400 (n = 30)		p ≤ 0,05
	Absolūtais skaits ± SD	Skaits %	Absolūtais skaits ± SD	Skaits %	
Leu	7910 ± 1960		5830 ± 2210		0,0020
Ly	2270 ± 700	28,83	1140 ± 210	19,88	0,0001
CD3 ⁺	1600 ± 580	70,77	780 ± 180	70,77	0,0001
CD4 ⁺	880 ± 330	39,29	450 ± 130	39,00	0,0001
CD8 ⁺	680 ± 370	29,11	330 ± 120	31,08	0,0001
CD38 ⁺	660 ± 300	29,03	320 ± 90	28,40	0,0001
CD16 ⁺	460 ± 310	19,69	220 ± 130	19,40	0,0015
CD19 ⁺	190 ± 110	8,03	110 ± 60	7,00	0,0018
CD95 ⁺	1130 ± 370	50,89	520 ± 130	48,80	0,0001
CD25 ⁺	180 ± 150	8,63	80 ± 50	7,50	0,0470
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,58 ± 0,85		1,18 ± 0,57		

2.2.3. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem ar un bez limfopēnijas

HHV-6 persistenta infekcija biežāk tika novērota pacientiem ar limfopēniju (2/35; 6,6%) nekā pacientiem bez tās (1/30; 2,6%), taču augstāka HHV-7 persistēntas infekcijas klātbūtne tika noteikta pacientiem I grupā (20/35; 57%) nekā II grupā (8/30; 27%). Vienlaicīga HHV-6 + HHV-7 persistenta infekcija biežāk tika atrasta pacientiem ar (9/30; 30%) nekā pacientiem bez (4/35; 11%) limfopēnijas.

Būtiska atšķirība tika konstatēta tikai HHV-6 latentas infekcijas klātbūtnē starp divām grupām, tomēr tikai HHV-7 latentas infekcijas augstāks biežums bija konstatēts I grupas pacientiem (17/20; 85%) salīdzinot ar II grupas pacientiem (4/8; 50%). Vienlaicīga HHV-6 + HHV-7 latentā infekcija daudz biežāk tika atrasta pacientiem bez limfopēnijas (4/4; 100%) nekā pacientiem ar limfopēniju (3/9; 33%).

Pacientu grupā bez limfopēnijas tika konstatēta būtiski ($p = 0,002$) zemāka aktīvas beta-herpesvīrusu infekcijas klātbūtne (3/25, 12%) nekā pacientiem ar limfopēniju (11/19, 58%). Tikai HHV-6 aktīva infekcija konstatēta vienam pacientam ar kuņģa un zarnu trakta vēzi no II grupas. HHV-7 aktīvas infekcijas biežums bija augstāks pacientiem no II grupas (4/8; 50%), salīdzinot ar pacientiem no I grupas (3/20; 15%). Dubulta HHV-6 + HHV-7 aktīva infekcija tika konstatēta tikai pacientiem ar limfopēniju (6/9; 64%) (2.6. tabula).

**Latentas un aktīvas beta-herpesvīrusu (HHV-6 un HHV-7) infekcijas
klātbūtne I un II pacientu grupā**

	Persistenta HHV-6 (latenta/ aktīva) infekcija	Persistenta HHV-7 (latenta/ aktīva) infekcija	Persistenta HHV-6 + HHV-7 (latenta/aktīva) infekcija	Bez HHV-6 vai HHV-7 infekcijas
I pacientu grupa (n=35)	1 (2,8%) (1/0)	20 (57%) (17/3)	4 (11%) (4/0)	10 (29%)
II pacientu grupa (n=30)	2 (6,6%) (1/1)	8 (27%) (4/4)	9 (30%) (3/6)	11 (37%)

**2.2.4. Imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinošā analīze kuņģa un
zarnu trakta vēža pacientiem ar un bez limfopēnijas atkarībā no beta-
herpesvīrusu infekcijas**

Imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinošā analīze I un II grupai tika veikta atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas. Katra grupa tika sadalīta trijās apakšgrupās: kuņģa un zarnu trakta vēža pacienti bez, ar latentu un ar aktīvu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju.

I grupas pacientiem ar aktīvu vīrusu infekciju bija tendence pieaugt visiem šūnu imunoloģiskajiem parametriem (leikocīti, monocīti, limfocīti un CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD38⁺, CD16⁺, CD19⁺, CD25⁺, CD95⁺), salīdzinot ar apakšgrupām ar latentu un bez HHV-6 un HHV-7 infekciju. Būtiska šūnu skaita samazināšanās tika konstatēta CD3⁺ un CD8⁺ subpopulācijās (attiecīgi, līdz 16% un 21%) II grupas slimniekiem ar aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju. Abu pacientu grupu B limfocītu (CD19⁺) skaitam aktīvas vīrusu infekcijas laikā

tika konstatēta tendence pieaugt. Slimniekiem bez limfopēnijas CD19⁺ populācijas šūnu skaita pieaugums bija līdz 105%, bet pacientiem ar limfopēniju tikai līdz 18%. Loģiskā regresijas analīze parādīja, ka pacientiem ar aktīvu vīrusu infekciju ir lielāks limfopēnijas risks (OR 3,33; 95% TI 0,72–15,51; p = 0,0035) nekā pacientiem ar latentu vīrusu infekciju (OR 0,33; 95% TI 0,10–1,07; p = 0,0035).

2.2.5. Proinflatatoro citokīnu līmeņi kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem ar un bez limfopēnijas

Netika konstatētas būtiskas izmaiņas IL-6, IL-1 β , sIL-2R un TNF-alfa līmeņos plazmā starp I un II grupas kuņģa un zarnu trakta vēža slimniekiem. Taču I un II grupas pacientiem ar aktīvu vīrusu infekciju bija tendence palielināties IL-6 un sIL-2R līmenim, tomēr TNF-alfa līmenis II grupā bija zemāks nekā pacientiem bez un ar latentu vīrusu infekciju un arī zemāks salīdzinājumā ar I grupas pacientiem ar aktīvu vīrusu infekciju (2.7. tabula).

IL-1beta, IL-6, sIL2R un TNF-alfa līmenis I un II grupas kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem

Pacientu grupas	IL-1beta (pg/ml) N = < 5,0	IL-6 (U/ml) N = 3,4	sIL-2R (U/ml) N = 223-710	TNF-alfa (pg/ml) N = 8,1
Grupa I (n = 10) Bez HHV-6 un/vai HHV-7	< 5,0	4,08 ± 1,23	527 ± 159,58	15,13 ± 5,15
Grupa II (n = 11) Bez HHV-6 un/vai HHV-7	< 5,0	5,15 ± 2,76	559,80 ± 379,10	15,58 ± 5,66
Grupa I (n = 22) HHV-6 un/vai HHV-7 latentā infekcija	< 5,0	5,44 ± 2,99	604,78 ± 242,33	11,62 ± 1,08
Grupa II (n = 8) HHV-6 un/vai HHV-7 latentā infekcija	< 5,0	5,55 ± 1,91	617,00 ± 173,20	13,83 ± 3,06
Grupa I (n = 3) HHV-6 un/vai HHV-7 aktīva infekcija	< 5,0	7,20 ± 11,88	851 ± 528,55	14,40 ± 5,31
Grupa II (n = 11) HHV-6 un/vai HHV-7 aktīva infekcija	< 5,0	6,18 ± 2,91	733,67 ± 388,76	9,78 ± 4,23

2.2.6. Klīniskais iznākums pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas

Kuņģa un zarnu trakta vēža stadijas tika noteiktas saskaņā ar TNM klasifikāciju (*Evaluation of the (primary) tumor 'T'; evaluation of the regional lymph nodes 'N'; evaluation of distant metastasis 'M'*). Pirmā stadija tika konstatēta tikai 9% pacientu. Lielākā daļa pacientu (43%) bija ar otro stadiju. Trešā stadija tika konstatēta 30% pacientu un vissmagākā - ceturtā stadija - 18% kuņģa un zarnu trakta vēža pacientu.

Pacienti netika novērota saistība starp beta-herpesvīrusu infekciju un vēža stadijām, tomēr slimniekiem ar ceturto vēža stadiju konstatēja vairāk persistentu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju (23%) (2.8. tabula). Tāpat netika konstatēta saistība starp limfopēniju un vēža stadijām, tomēr pacientiem ar limfopēniju novēroja lielāku mirstību (53%) nekā pacientiem bez tās (34%), kaut gan atšķirība nav statistiski ticama.

2.8. tabula

Kuņģa un zarnu trakta vēža stadiju sadalījums pacientiem atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas

Vēža stadija	Bez HHV-6 un/vai HHV-7 (n=21)	Persistenta HHV-6 un/vai HHV-7 infekcijas (n=44)	Vēža stadija	Latenta HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija (n=30)	Aktīva HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija (n=14)
I stadija	4 (19%)	3 (7%)	I stadija	1 (4%)	2 (15%)
II stadija	9 (44%)	19 (43%)	II stadija	13 (44%)	6 (39%)
III stadija	7 (31%)	12 (27%)	III stadija	8 (26%)	4 (31%)
IV stadija	1 (6%)	10 (23%)	IV stadija	8 (26%)	2 (15%)

2.3. HHV-6 un HHV-7 infekcijas loma AIT attīstībā

2.3.1. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtne pacientiem ar AIT

Beta-herpesvīrusu infekcijas marķieru klātbūtne biežāk tika konstatēta pacientiem ar AIT nekā praktiski veseliem asins donoriem (attiecīgi, 93% un 84%).

Persistenta HHV-6 infekcija tika atrasta 12 no 44 (27%) pacientiem ar AIT un tāds pats infekcijas biežums tika konstatēts arī praktiski veseliem asins donoriem (43/150, 29%). Persistenta HHV-7 infekcija tika konstatēta 40 no 44 (91%) AIT slimniekiem, kas ir ievērojami biežāk nekā praktiski veseliem asins donoriem (75%; $p = 0,03$).

Tikai HHV-6 un tikai HHV-7 persistentas infekcijas klātbūtne bija augstāka praktiski veseliem asins donoriem (attiecīgi, 8,6% un 55%), salīdzinot ar AIT pacientiem (attiecīgi, 2,3% un 36%). Dubulta HHV-6 + HHV-7 persistenta infekcija daudz biežāk tika konstatēta slimniekiem ar AIT nekā praktiski veseliem asins donoriem (attiecīgi 55% un 20%).

Tikai HHV-6 aktīva infekcija netika konstatēta AIT pacientiem. HHV-7 aktīvas infekcijas biežums bija augstāks ($p < 0,0001$) pacientiem ar AIT, salīdzinot ar praktiski veseliem asins donoriem (38% un 15%, attiecīgi). Dubulta HHV-6 + HHV-7 aktīva infekcija tika konstatēta tikai AIT pacientiem (13/44; 30%) (2.9. tabula).

2.9. tabula

HHV-6 un HHV-7 infekcijas klātbūtne pacientiem ar AIT

	Persistenta HHV-6 (latenta/aktīva) infekcija	Persistenta HHV-7 (latenta/aktīva) infekcija	Persistenta HHV-6 + HHV-7 (latenta/aktīva) infekcija	Bez HHV-6 vai HHV-7 infekcijas
AIT pacienti (n = 44)	1 (2,3%) (1/0)	16 (36%) (10/6)	24 (55%) (11/13)	3 (7%)
Praktiski veseli asins donori (n = 150)	13 (8,6%) (13/0)	83 (55%) (71/12)	30 (20%) (30/0)	24 (16%)

2.3.2. Imūnkompetento šūnu populāciju analīze pacientiem ar AIT atkarībā no vīrusu infekcijas

Imūnkompetento šūnu populāciju analīze pacientiem ar AIT tika veikta atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas. Pacienti tika iedalīti trīs apakšgrupās: AIT pacienti bez, ar latentu un ar aktīvu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju.

Tāpat kā iepriekšējās grupās pacientiem ar latentu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju tika konstatēta gandrīz visu imunoloģisko parametru palielināšanās (Ly, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ un CD95⁺), salīdzinot ar pacientiem bez vīrusu infekcijas un pacientiem ar aktīvu vīrusu infekciju. Pacientiem ar aktīvu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju tika novērota šūnu skaita samazināšanās gandrīz visās imūnkompetento šūnu populācijās salīdzinājumā ar pacientiem ar latentu infekciju, taču bez statistiskās ticamības (2.10. tabula).

2.10. tabula

Šūnu imūno parametru analīze pacientiem ar AIT atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas

Parametri	Bez HHV-6 un/vai HHV-7 infekcijas (n = 3)	Latenta HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija (n = 21)	Aktīva HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija (n = 20)
Leu	5833 ± 1401	6073 ± 1297	6252 ± 1597
Ly	1883 ± 188	2087 ± 732	1994 ± 427
CD3+	1312 ± 131	1454 ± 510	1390 ± 297
CD4+	497 ± 49	551 ± 193	527 ± 112
CD8+	283 ± 28	314 ± 110	300 ± 64
CD16+	376 ± 37	417 ± 146	399 ± 86
CD19+	163 ± 16	181 ± 63	173 ± 37
CD95+	1160 ± 115	1285 ± 450	1228 ± 263
CD4+/CD8+	0,9 ± 0,3	1,33 ± 0,85	1,14 ± 0,56

2.3.3. HHV-6 un HHV-7 infekciju klātbūtne vairogdziedzera audos

Persistenta beta-herpesvīrusu HHV-6 un HHV-7 infekcija tika konstatēta 43 no 44 (98%) pacientu vairogdziedzera audu DNS paraugos un 31 no 41 (76%) kontroles grupas autopsijas DNS paraugos ($p = 0,003$). 42 (95%) no 44 pacientu audu DNS paraugos tika atrasta HHV-6 genoma secības klātbūtne, turpretī kontroles grupā HHV-6 genoma secība tika konstatēta 25 no 41 (61%) autopsijas audu DNS parauga ($p < 0,0001$). HHV-7 vīrusa genoma secība tika atrasta 33 (75%) no 44 AIT pacientu vairogdziedzera audu DNS paraugiem. Turpretī, DNS paraugos, kas iegūti no kontroles grupas vairogdziedzera audu autopsijas materiāla, HHV-7 genoma secība tika konstatēta 16 no 41 (39%) parauga ($p = 0,001$).

Salīdzinot tikai HHV-6 un tikai HHV-7 genoma secību biežumu vairogdziedzera audu DNS paraugos, netika konstatēta ticama atšķirība starp pacientu un kontroles grupām, taču vienlaicīga HHV-6 un HHV-7 genoma secību klātbūtne audu DNS paraugos bija ievērojami lielāka ($p < 0,0001$) AIT pacientu grupā (2.11. tabula).

Abās pētījumā iekļautajās grupās HHV-6 genoma secības klātbūtne (95%) vairogdziedzera audu DNS paraugos bija atrasta ticami biežāk ($p = 0,01$) nekā HHV-7 genoma secības klātbūtne (75%).

**Beta-herpesvīrusu (HHV-6 un HHV-7) infekciju klātbūtne AIT pacientu
vairogdziedzera audu DNS paraugos un autopsijas materiālā**

	HHV6	HHV-7	HHV-6 + HHV-7	Bez
Pacienti ar AIT (n = 44)	10 (23%)	1 (2,3%)	32 (73%)	1 (2,3%)
Kontroles grupa (autopsijas materiāls) (n = 41)	15 (36%)	6 (15%)	10 (24%)	10 (24%)

**2.3.4. HHV-6 genoma secību klātbūtnes salīdzinājums vairogdziedzera
audos un asins paraugos**

43 (98%) no 44 AIT pacientiem tika konstatēta HHV-6 genoma secības klātbūtne vairogdziedzera audu un asins DNS paraugos: 17 (39%) pacientiem – gan vairogdziedzera audu, gan asins DNS paraugos un 25 (58%) pacientiem – tikai vairogdziedzera audu DNS paraugos. HHV-6 genoma secība tika konstatēta arī 25 (61%) DNS paraugos, kas bija izdalīti no kontroles grupas autopsijas materiāliem: 14 (34%) gadījumos asiņu un audu DNS paraugos un 11 (27%) gadījumos tikai audu DNS paraugos (2.12. tabula).

Salīdzinājumā ar kontroles grupu HHV-6 genoma secības klātbūtne vairogdziedzera audos bija ievērojami biežāk konstatēta pacientiem ar AIT nekā kontroles grupas autopsijas materiālā ($p = 0,008$).

HHV-6 genoma secības klātbūtne perifēro asiņu un vairogdziedzera audu DNS paraugos AIT pacientiem un kontroles grupas autopsijas materiālā

HHV-6 genoma secības klātbūtne	Pacienti ar AIT (n = 44)	Kontroles grupa (autopsijas materiāls) (n = 41)
Tikai asins DNS	1	0
Asins DNS + vairogdziedzera audu DNS	17	14
Tikai vairogdziedzera audu DNS	25	11
Asins DNS + plazmas DNS	0	0
Vairogdziedzera audu DNS + asins DNS + plazmas DNS	0	0
Bez	1	16

2.3.5. HHV-6 slodze perifēro asiņu un vairogdziedzera audu DNS paraugos

HHV-6 slodze pacientu perifēro asiņu, vairogdziedzera audu un galveno limfocītu subpopulāciju ($CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD19^+$ un $CD95^+$) DNS paraugos tika noteikta izmantojot reālā laika polimerāzes ķēdes reakciju. Vīrusu slodze pacientu perifēro asiņu DNS paraugos vidēji bija 98 ± 44 kopijas/ 10^6 šūnām, bet vairogdziedzera audu DNS paraugos – 2552 ± 2015 kopijas/ 10^6 šūnām.

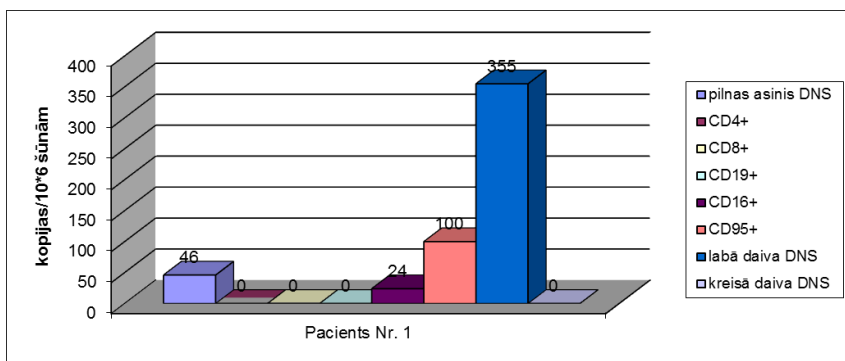
Lai pārlicinātos, ka DNS paraugos konstatētā HHV-6 genoma secība ir vairogdziedzera audos un nevis limfocītu infiltrātos, ar reālā laika polimerāzes ķēdes reakciju tika pārbaudīta arī DNS, kas bija izdalīta no galvenajām limfocītu subpopulācijām.

Ievērojama HHV-6 vīrusa slodze limfocītu subpopulāciju DNS tika konstatēta diviem no septiņiem izmeklētajiem pacientiem. Vienam pacientam, kuram HHV-6 genoma secības klātbūtne ar nPKR bija atrasta gan perifēro

asiņu, gan vairogdziedzera audu DNS paraugos, HHV-6 slodze tika konstatēta NK un CD95⁺ šūnās (attiecīgi, 24 un 100 kopijas/10⁶šūnām). Šim pacientam arī tika konstatēta zemāka HHV-6 slodze perifēro asiņu DNS paraugā (46 kopijas/10⁶šūnām), salīdzinot ar vairogdziedzera audu DNS paraugu, kur HHV-6 slodze bija 355 kopijas/10⁶šūnām (2.1. attēls).

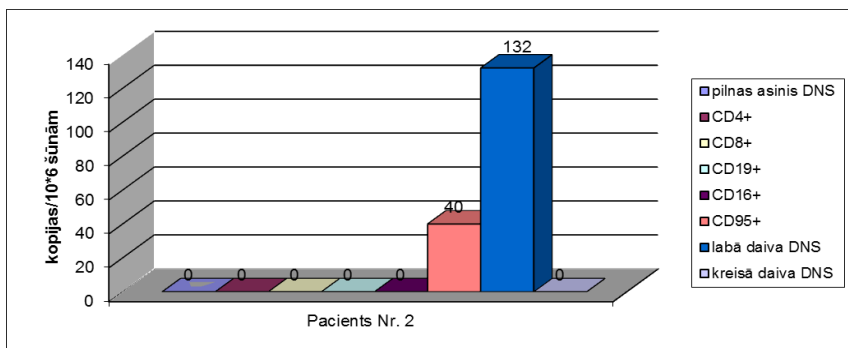
Otrajam pacientam, kuram HHV-6 genoma secību klātbūtne ar nPKR bija atrasta tikai vairogdziedzera audu DNS paraugā, HHV-6 slodze tika konstatēta tikai CD95⁺ šūnās. HHV-6 slodze CD95⁺ šūnās bija 40 kopijas/10⁶šūnām (2.2. attēls).

Pārējo piecu pacientu analizētajā materiālā limfocītu apakšgrupu (CD8⁺, CD16⁺ un CD95⁺) DNS tika konstatēta nenozīmīga (vadoties pēc ražotāju protokola) HHV-6 slodze (diapazons 14-20 kopijas/1×10⁶šūnām).



	Perifēro asiņu DNS	Plazma	Vairogdziedzera laba daiva	Vairogdziedzera kreisā daiva
HHV-6 vīrusu genoma secība ar nPKR	+	-	+	-

2.1. attēls. HHV-6 slodze perifēro asiņu, vairogdziedzera audu un galveno limfocītu subpopulāciju DNS paraugos pacientam Nr.1; nPKR rezultāti



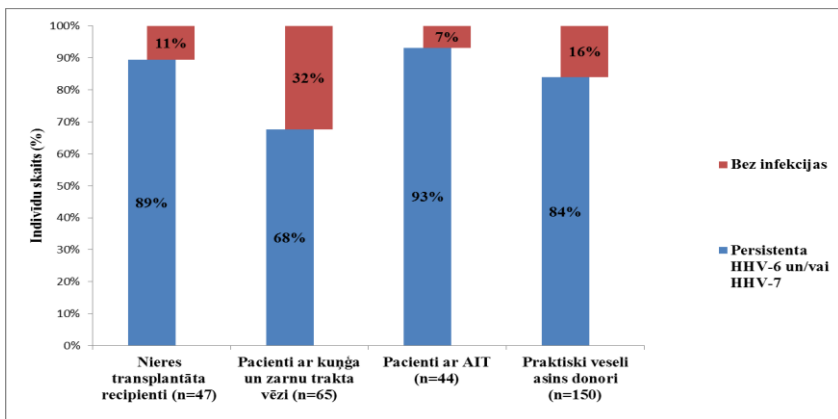
	Perifēro asiņu DNS	Plazma	Vairogdziedzera labā daiva	Vairogdziedzera kreisā daiva
HHV-6 vīrusu genoma secība ar nPQR	-	-	+	-

2.2. attēls. **HHV-6 slodzes perifēro asiņu, vairogdziedzera audu un galveno limfocītu subpopulāciju DNS paraugos pacientam Nr.2; nPQR rezultāti**

2.4. Salīdzinošā analīze pacientiem ar dažādiem imūnsistēmas darbības traucējumiem

2.4.1. Beta-herpesvīrusu infekciju biežuma salīdzinājums

Biežāka HHV-6 un HHV-7 infekcijas sastopamība tika konstatēta AIT pacientiem (93%), salīdzinot ar kuņģa un zarnu trakta vēža un nieru transplantācijas pacientu grupām. Ievērojami zemāka beta-herpesvīrusu sastopamība (68%) tika konstatēta kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem ($p < 0,05$), salīdzinot ar pārējo divu grupu pacientiem (2.3. attēls).

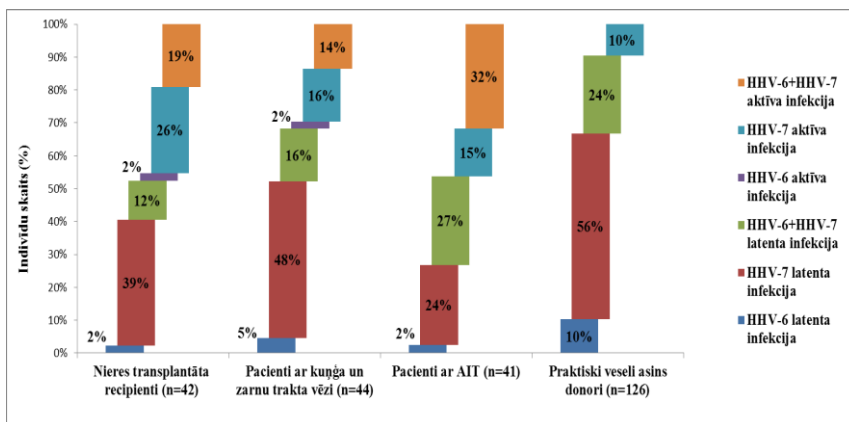


2.3. attēls. Persistentu beta-herpesvīrusu infekciju klātbūtne trīs analizētajās pacientu grupās

HHV-6 latentas infekcijas sastopamības ziņā starp izmeklētajām grupām ticama atšķirība netika novērota, tomēr kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem, salīdzinot ar AIT pacientiem un nieru transplantāta recipientiem, ievērojami biežāk tika atrasta HHV-7 latentas infekcijas klātbūtne ($p = 0,04$). Dubulta HHV-6 + HHV-7 latentā infekcija biežāk tika konstatēta pacientiem ar AIT (27%) nekā nieru transplantāta recipientiem (12%) un kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem (16%), tomēr atšķirība bija statistiski nenozīmīga.

HHV-6 aktīva infekcija tika atrasta tikai nieru transplantāta recipientiem un kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem, taču bez būtiskas atšķirības. HHV-7 aktīvas infekcijas augstāka sastopamība tika konstatēta nieru transplantāta recipientiem (26%) salīdzinājumā ar kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem (16%) un autoimūnā tireoidīta pacientiem (15%). Vienlaicīgas HHV-6+HHV-7 aktīvas infekcijas klātbūtne daudz biežāk tika atrasta

pacientiem ar AIT (32%), salīdzinot ar nieres transplantāta recipientiem (19%) un kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem (14%) (2.4. attēls).



2.4. attēls. Latentas un aktīvas beta-herpesvīrusu infekcijas klātbūtne trīs analizētajās pacientu grupās

2.4.2. Imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinājums atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas

Neskatoties uz spēcīgu imūnsupresiju nieres transplantāta recipientiem, šīs grupas pacientiem tika konstatēts lielāks leikocītu skaits nekā ārējām pacientu grupām. Nieres transplantāta recipientiem un kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem vidējais absolūtais leikocītu skaits bija lielāks beta-herpesvīrusu latentas infekcijas laikā un samazināts aktīvas infekcijas laikā, bet AIT pacientiem leikocītu skaits bija ievērojami lielāks latentas un aktīvas infekcijas laikā.

Imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinošā analīze atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas AIT pacientiem un divu pārējo grupu pacientiem ar dažādas izcelsmes imūnsupresiju parādīja atšķirības imunoloģisko parametru izmaiņās. AIT pacientiem HHV-6 un/vai HHV-7 latentas infekcijas laikā tika novērots pastāvīgs pieaugums (līdz 11%) visās imūnkompetento šūnu grupās (Ly, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ un CD95⁺) un vienmērīgs samazinājums - aktīvas infekcijas laikā (līdz 4%).

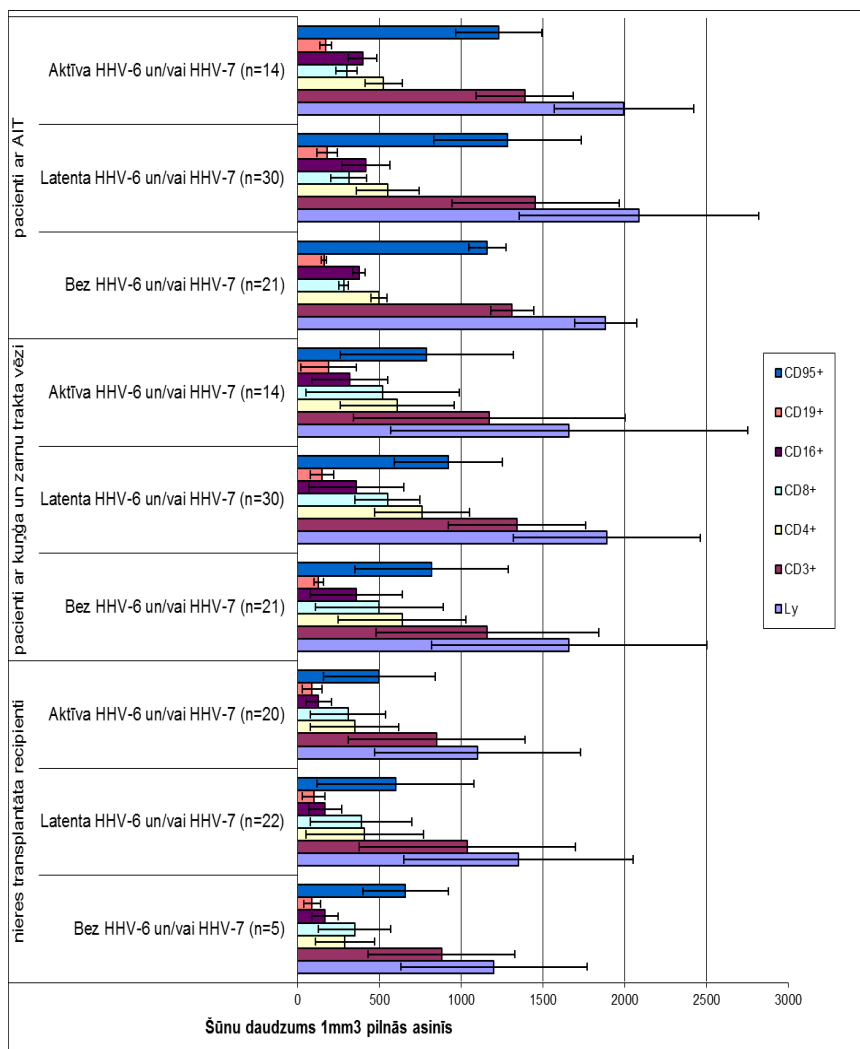
Beta-herpesvīrusu latentas infekcijas gadījumā nierēs transplantāta recipientiem tika konstatēts limfocītu skaita pieaugums līdz 13% un kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem līdz 14%. Tika novērota limfocītu skaita samazināšanās abās grupās (līdz 19% nierēs transplantāta recipientiem un 12% kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem) HHV-6 un/vai HHV-7 aktīvas infekcijas laikā. Gandrīz tā pati tendence bija vērojama attiecībā uz CD3⁺ subpopulāciju (limfocītu skaita pieaugums latentas infekcijas laikā līdz 18% nierēs transplantāta recipientiem un līdz 15% kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem, limfocītu skaita samazinājums aktīvas infekcijas laikā – līdz 18% nierēs transplantāta recipientiem un 12% kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem). Lielāks CD4⁺ šūnu skaita pieaugums beta-herpesvīrusu latentas infekcijas laikā tika konstatēts nierēs transplantāta recipientiem (līdz 41%), salīdzinot ar kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem (līdz 19%), un autoimūnā tireoidīta pacientiem (līdz 11%). Visās trijās pacientu grupās tika novērota arī šūnu skaita palielināšanās CD8⁺ subpopulācijā (līdz 11% visās grupās). CD16⁺ subpopulācijas šūnu skaita pieaugums latentas infekcijas laikā tika novērots tikai AIT pacientiem (līdz 11%).

Leikocītu skaits un šūnu daudzums citās imūnkompetento šūnu populācijās (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD38⁺, CD19⁺, CD25⁺ un CD95⁺) latentas beta-herpesvīrusu infekcijas laikā bija palielināts nierēs transplantāta recipientiem un kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem, salīdzinot ar attiecīgām

apakšgrupām bez vīrusu infekcijas. Abu grupu salīdzinājums parādīja būtiskas atšķirības CD4⁺, CD16⁺, CD19⁺ un CD25⁺ subpopulāciju šūnu skaitā ($p < 0,05$) starp pacientiem ar latentu un aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju. Nieres transplantātu recipientiem ar aktīvu vīrusu infekciju vidējais absolūtais CD4⁺ limfocītu skaits bija samazinājies līdz 14% un kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem līdz 19%, salīdzinot ar pacientiem ar latentu infekciju. Būtiskākais samazinājums tika konstatēts CD16⁺ šūnu skaitā, kur nieres transplantāta recipientiem ar aktīvu vīrusu infekciju šūnu skaits šajā subpopulācijā bija samazinājies līdz 24%, bet kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem tikai līdz 11%, salīdzinot ar attiecīgām pacientu apakšgrupām ar latentu vīrusu infekciju. Jāatzīmē, ka divās pacientu grupās ar aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju, B limfocītu (CD19⁺) skaitam bija tendence samazināties – nieres transplantāta recipientiem (līdz 10%) un AIT pacientiem (līdz 4%), taču kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem B limfocītu (CD19⁺) skaitam bija tendence palielināties (līdz 26%).

Ar salīdzinošu imūnkompetento šūnu subpopulāciju analīzi visās trīs pacientu grupās lielākās atšķirības šūnu skaitā tika konstatētas starp nieres transplantāta recipientiem un AIT pacientiem. Vidējais absolūtais limfocītu skaits bija ievērojami augstāks ($p < 0,0001$) AIT pacientiem latentes (2087 ± 732) un aktīvas (1994 ± 427) HHV-6/7 infekcijas laikā salīdzinājumā ar nieres transplantāta recipientiem (attiecīgi, 1350 ± 700 līdz 1100 ± 630), kā arī nenozīmīga atšķirība tika konstatēta starp AIT pacientiem un kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem. AIT pacientiem tika konstatēts arī būtiski lielāks ($p < 0,0001$) vidējais absolūtais CD16⁺ un CD19⁺ šūnu skaits, salīdzinot ar nieres transplantāta recipientiem. Būtiski ($p < 0,005$) lielāka CD95⁺ šūnu klātbūtne tika konstatēta AIT pacientiem, salīdzinot ar nieres transplantāta recipientiem un kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem. Tomēr vidējais absolūtais CD8⁺ šūnu skaits bija būtiski ($p < 0,0001$) augstāks kuņģa un zarnu

trakta vēža pacientiem ar latentu un aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju, salīdzinot ar AIT pacientiem (2.5. attēls).



2.5. attēls. Imūnkompetento šūnu subpopulāciju salīdzinājums atkarībā no beta-herpes vīrusu infekcijas trīs analizētajās pacientu grupās

3. DISKUSIJA

Šobrīd ir daudz pētījumu, kuros ir mēģināts atrast un novērtēt beta-herpesvīrusu infekcijas lomu dažādu hronisku slimību etiopatoģenēzē, bet joprojām nav viennozīmīgas atbildes uz šo jautājumu. Tas varētu būt saistīts ar šo vīrusu dabu un dažādajiem iekļaušanās mehānismiem saimnieka organismā, ko šie vīrusi izmanto. Taču ir viena kopīga iezīme, ko novēro visās pētītajās grupās – tie ir traucējumi imūnajā sistēmā, īpaši dažādas izcelsmes imūnsupresija, kas ir beta-herpesvīrusu aktivācijas pamatā. Saimnieka organismā herpesvīrusi var darboties gan tieši, gan netieši. Tas nozīmē, ka vīrusi inficē šūnas, kas iesaistītas šūnu un humorālās imūnās atbildes reakcijas veidošanā, un tajā pašā laikā šie vīrusi izmaina šūnu virsmas receptoru ekspresiju, kā arī proinflatōro citokīnu (IL-12, IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ) un hemokīnu ekspresijas līmeņus, tādējādi veicinot lokālu iekaisumu.

Šajā darbā salīdzinātas trīs dažādas pacientu grupas ar dažāda veida imūnsistēmas disfunkcijām. Nieres transplantāta recipientiem imūnsupresiju ir izraisījusi pretatgrūšanas medikamentozā (imūnsupresantu) terapija, kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem – pamatslimība, bet pacientiem ar autoimūno tireoidītu – autoimūnas dabas imūnsistēmas traucējumi.

Visu trīs minēto pacientu grupu imūnkompetento šūnu populāciju salīdzinājums parāda smagāku imūnsupresiju nierēs transplantāta recipientiem (gandrīz divkārsš visu parametru samazinājums, salīdzinot ar pārējām divām pacientu grupām) neatkarīgi no beta-herpesvīrusu infekcijas. Šis fakts ir kritisks nierēs transplantāta recipientiem ar aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju, jo šajā apakšgrupā ir uzrādīts lielākais visu limfocītu populāciju kritums salīdzinājumā ar abām pārējām pacientu grupām.

Nieres transplantāta recipientu grupā ir konstatēts arī lielākais beta-herpesvīrusu infekcijas biežums, salīdzinot ar kuņģa un zarnu trakta vēža

pacienti (attiecīgi 89% un 68%). Tikai HHV-7 aktīva infekcija vairāk ir konstatēta nierēs transplantāta recipientiem (26%), salīdzinot ar kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem (16%) un pacientiem ar autoimūno tireoidītu (15%), kaut gan atšķirība nav statistiski ticama. Tas norāda, ka arī HHV-7 infekcijai ir būtiska loma imūnsistēmas disregulācijā (supresijā), tādējādi pasliktinot slimības klīnisko gaitu un iznākumu.

Šūnu imūno parametru salīdzinošā analīze atkarībā no beta-herpesvīrusu infekcijas parāda ievērojami zemāku (14%; $p < 0,0001$) CD16⁺ limfocītu skaitu nierēs transplantāta recipientiem nekā kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem (19,5%) un slimniekiem ar autoimūno tireoidītu (20%). Iespējams, ka šajā grupā novērotais CD16⁺ šūnu skaita samazinājums ir saistīts ar beta-herpesvīrusu imūnmodulējošām īpašībām, jo minētās šūnas nav galvenās HHV-6 un HHV-7 mērķa šūnas.

Komplikāciju attīstība ir konstatēta 30% no transplantāta recipientiem un ievērojami biežāk ($p = 0,048$) pacientiem ar aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju (10/20; 50%) nekā pacientiem ar latentu infekciju (4/22; 18%). Arī loģiskās regresijas analīze parāda lielāku komplikāciju risku attīstību pacientiem ar aktīvu vīrusu infekciju nekā ar latentu infekciju (attiecīgi OR 4,5; 95% TI 1,12–18,13; $p = 0,03$ un OR 0,22; TI 0,06–0,89 95%; $p = 0,03$). Tas ir pierādījums HHV-6 un HHV-7 infekcijas līdzdalībai komplikāciju attīstībā pateicoties minēto vīrusu imūnmodulatorajām īpašībām.

Attiecībā uz kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem šobrīd ir pārāk maz informācijas par beta-herpesvīrusu infekcijas ietekmi uz slimības klīnisko gaitu. Kuņģa un zarnu trakta ļaundabīgie audzēji tiek saistīti ar imūnsistēmas disbalansu un vīrusi, tādi kā, imunotropie un imūnmodulējošie HHV-6 un HHV-7, iespējams var ietekmēt šūnu mehānismus, kas atbild par imūnās atbildes inhibēšanu. Saimnieka imūno faktoru funkcionālo īpašību modulācija

ir nozīmīgs mehānisms imūnās atbildes apiešanai vai vides radīšanai, kurā vīruss var izdzīvot.

Imūnkompetento šūnu populāciju analīze liecina, ka tikai 46% kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem ir limfopēnija ($Ly < 1400$ šūnas/ 1mm^3 perifēro asiņu), tāpēc ir interesanti salīdzināt šo pacientu grupu ar pacientiem bez limfopēnijas ($Ly > 1400$ šūnas/ 1mm^3 perifēro asiņu).

Iegūtie rezultāti liecina, ka kuņģa un zarnu trakta vēža pacientu grupā ar limfopēniju HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivācija ir ievērojami biežāka ($p = 0,003$). Arī imūnkompetento šūnu populācijas salīdzinošā analīze parāda šūnu skaita samazinājumu beta-herpesvīrusu mērķa šūnu populācijās (limfocītu un $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD38^+$ subpopulāciju). Šādu atšķirību šūnu populācijās var uzskatīt par vēl vienu pierādījumu HHV-6 un HHV-7 līdzdalībai šīs onkoloģiskās slimības progresēšanā. Bez tam, tikai kuņģa un zarnu trakta vēža pacientiem bez limfopēnijas aktīvas beta-herpesvīrusu infekcijas laikā ir konstatēts absolūtā limfocītu skaita (līdz 9%) un šūnu skaita pieaugums $CD3^+$ (līdz 13%), $CD4^+$ (līdz 19%) un $CD8^+$ (līdz 9%) populācijās, turpretī pacientiem ar limfopēniju šūnu skaits šajās populācijās ir samazinājies. Šo faktu var skaidrot ar daudz biežāko beta-herpesvīrusu aktivāciju pamatslimības izraisītās imūnsupresijas ietekmē, savukārt, aktīva vīrusu infekcija vairāk ietekmē imūnkompetento šūnu skaitu (to samazinot). Šī pieņēmuma apstiprināšanai ir veikta loģiskās regresijas analīze, un tā parāda, ka pacientiem ar aktīvu vīrusu infekciju ir lielāks limfopēnijas risks (OR 3,33; 95% TI 0,72–15,51 $p = 0,0035$) nekā pacientiem ar latentu vīrusu infekciju (OR 0,33; 95% TI 0,10–1,07; $p = 0,0035$).

Lai gan smagākās ceturtās kuņģa un zarnu trakta vēža stadijas attīstība vairāk ir konstatēta pacientiem ar persistentu beta-herpesvīrusu infekciju (10/44; 23%) nekā bez vīrusu infekcijas (1/21; 6%), nav atrasta saistība starp vēža stadijas attīstību un beta-herpesvīrusu infekciju. Tomēr augstāks mirstības

rādītājs (16/30; 53%) ir konstatēts pacientiem ar limfopēniju nekā bez (12/35; 34%) limfopēnijas. Šis fakts liecina, ka limfopēnija ir svarīgs faktors, kas ietekmē slimības gaitu, savukārt ir parādīta cieša limfopēnijas attīstības asociācija ar aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju.

Iegūtie rezultāti liecina par HHV-6 un HHV-7 infekcijas būtisku lomu imūnsupresijas attīstībā un padziļināšanā gan nieres transplantāta recipientu, gan kuņģa un zarnu trakta vēža pacientu grupās.

Vīrusu infekcijas bieži tiek minētas kā nozīmīgs vides faktors, kas iesaistīts autoimūno tireoidītu etiopatogēnēzē, bet neviens konkrēts vīruss pagaidām vēl nav pārliecinoši saistīts ar šīs slimības attīstību. Īpaša uzmanība šai sakarā ir pievērsta herpesvīrusiem, kaut gan pierādījumi par šo vīrusu iesaisti minētajā patoloģiskajā procesā ir pretrunīgi. Gadījuma ziņojumi liecina par iespējamo saistību starp herpesvīrusu infekciju un autoimūno tireoidītu, kaut gan citā pētījumā, kurā analizēti vairogdziedzera DNS paraugi, EBV, CMV un HSV-1 genoma secību klātbūtne nav konstatēta. Nesenā pētījumā analizēta herpesvīrusu DNS klātbūtne pēcoperācijas vairogdziedzera paraugos (no audu blokiem) un, lietojot PQR, HHV-6 genoma secība atrasta 2 no 15 (13,3%) Hašimoto tireoidīta audu paraugiem, turpretī Greivsa slimības vai *multinodular goiter* pacientu vairogdziedzera audos HHV-6 DNS esamība nav konstatēta.

Šajā darbā ir parādīta būtiski biežāka ($p = 0,003$) HHV-6 un HHV-7 genoma secību klātbūtne DNS paraugos, kas iegūti no pacientiem ar autoimūno tireoidītu (43/44; 98%), salīdzinot ar kontroles grupas autopsijas paraugiem (31/41; 76%). 43/44 pacientu vairogdziedzera audu DNS ir atrastas HHV-6 genoma secības. Šie rezultāti liecina par iespējamu HHV-6 iesaisti AIT attīstībā. Interesanti, ka 25/44 (57%) pacientiem HHV-6 genoma secības klātbūtne ir atrasta tikai vairogdziedzera audu DNS paraugos, kas liecina par HHV-6 iespējamo latenci vairogdziedzērī. Tomēr nevar izslēgt arī HHV-6 DNS

klātbūtni vairogdziedzera audos esošos limfocītu infiltrātos. Reālā laika PQR rezultāti parāda, ka vidējā HHV-6 vīrusa slodze vairogdziedzera audu paraugos ir lielāka nekā perifēro asiņu paraugos, kas apstiprina pieņēmumu, ka vairogdziedzeris ir viena no HHV-6 latences vietām. Iegūtie dati norāda uz HHV-6 infekcijas iesaistīšanos AIT attīstībā.

Visiem pacientiem ar HHV-6 genoma secību klātbūtni konstatēta HHV-6B sugas esamība. Tas norāda, ka HHV-6A suga trīs analizēto grupu pacientiem iespējams ir reti sastopama vai arī tās latences vieta persistentas infekcijas gadījumā ir cita nevis perifērās asinis un vairogdziedzera audi, kas izmantoti kā pētāmais materiāls šajā darbā. Nevar izslēgt, ka viens no dominantās HHV-6B sugas klātbūtnes cēloņiem varētu būt saistīts ar ģeogrāfisko izplatību.

Šis darbs atspoguļo dažādus beta-herpesvīrusu infekcijas iesaistes ceļus hronisku slimību etiopatogēnēzē. Nieres transplantāta recipientiem beta-herpesvīrusu darbība ir saistīta ar imūnsupresijas padziļināšanos ārstēšanas laikā. Pie tam šajā pacientu grupā būtiska loma imūnsupresijas padziļināšanā ir aktīvai HHV-7 infekcijai. No otras puses, pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi ir konstatēta mazāka beta-herpesvīrusu HHV-6 un HHV-7 infekcijas sastopamība nekā pārējās divās pacientu grupās – tikai 68% pacientu, tomēr limfopēnijas attīstība šiem slimniekiem ar pavājinātu imunitāti ir cieši saistīta ar aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju. AIT gadījumā īpaši HHV-6 infekcija ir saistīta ar šīs slimības attīstību (pamatojoties uz augstāku sastopamību un augstāku vīrusa slodzi vairogdziedzera audos, salīdzinot ar perifērām asinīm). HHV-6 un HHV-7 infekcija iespējams varētu būt galvenais iemesls antigēnu ekspresijai vairogdziedzera audos latentas infekcijas laikā, tādējādi „palaižot” autoimūno procesu, vai arī tai varētu būt sekundāra nozīme, inficējot un iznīcinot tireocītus (folikulu šūnas).

4. SECINĀJUMI

1. Nieres transplantāta recipientiem ar aktīvu beta-herpesvīrusu infekciju padziļinās imūnsupresija un pastāv lielāks komplikāciju attīstības risks.
2. HHV-6 un HHV-7 aktivācijas rezultātā pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi samazinās kopējais limfocītu skaits, pieaug IL-6, sIL-2R ekspresijas līmenis un samazinās TNF-alfa ekspresijas līmenis, kas savukārt ir padziļinātas imūnsupresijas iemesls.
3. Pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi HHV-6 un HHV-7 persistenta infekcija nav saistīta ar vēža attīstības stadiju, taču HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivācijas rezultātā pasliktinās pamatslimības klīniskā gaita un klīniskais iznākums.
4. HHV-6 un HHV-7 genoma secības ir bieži satopamas vairogdziedzera audos kā arī pilnu asiņu DNS paraugos pacientiem ar autoimūno tireoidītu, tādēļ nevar izslēgt šīs vīrusinfekcijas saistību ar autoimūnā tireoidīta attīstību.
5. Augstāka HHV-6 slodze autoimūnā tireoidīta pacientu vairogdziedzera audos nekā perifērajās asinīs ir papildus pierādījums šīs vīrusinfekcijas iesaistei autoimūnā tireoidīta attīstībā un norāda, ka vairogdziedzēris ir viena no HHV-6 latences vietām.
6. HHV-6B sugas atrade gan nieres transplantāta recipientiem, gan pacientiem ar kuņģa un zarnu trakta vēzi un autoimūno tireoidītu liecina par šīs vīrusa sugas dominantu izplatību Latvijā.

5. REKOMENDĀCIJAS

1. HHV-6 un HHV-7 infekcijas noteikšanai ir nepieciešamas ļoti jutīgas molekulārās un seroloģiskās metodes, kas ļauj atšķirt persistentās infekcijas latento un aktīvo fāzi.
2. HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivācija nieres transplantātu recipientiem ir saistīta ar imūnsupresiju, ko izraisa pretatgrūšanas medikamentozā terapija. Tādēļ pacientiem ar persistentu beta-herpesvīrusu infekciju ir jākontrolē vīrusu aktivācija, lai mazinātu vai novērstu komplikāciju attīstības risku.
3. 46% kuņģa un zarnu trakta vēža pacientu ir atrasta aktīvas beta-herpesvīrusu (HHV-6 un HHV-7) infekcijas saistība ar limfopēnijas attīstību. Tādēļ pacientiem ar persistentu beta-herpesvīrusu infekciju ir jākontrolē vīrusu aktivācijas fāze, lai novērstu limfopēnijas un imūnsupresijas padziļināšanos laika gaitā.
4. Ņemot vērā, ka viena no HHV-6 latences vietām ir vairogdziedzera audi, tiek rekomendēts monitorēt beta-herpesvīrusu persistentas infekcijas aktivitāti visiem pacientiem ar pirmreizējām vairogdziedzera slimībām, lai novērstu autoimūnā procesa progresiju.

6. PATEICĪBAS

Autore izsaka pateicību: promocijas darba vadītājām asoc.prof. Modrai Murovscai un vad.pētn. Svetlanai Čapenko par padomiem un atbalstu promocijas darba tapšanā, prof. Sandrai Lejniecei par konsultācijām un atbalstu doktorantūras studiju laikā, RSU zinātņu prorektorei prof. Ivetai Ozolantai un zinātniskajai sekretārei Ingridai Kreilei par sniegto atbalstu un padomiem, visiem kolēģiem un sadarbības partneriem par izpratni un morālo atbalstu.

7. PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

7.1. Publikācijas

1. Sultanova A., Čistjakovs M., Čapenko S., Donina S., Murovska M. Possible interference of human beta-herpesviruses-6 and -7 in gastrointestinal cancer development // *Experimental oncology*, 2013; 35 (2): 93–96.
2. Sultanova A., Čistjakovs M., Čapenko S., Donina S., Ziedina I., Murovska M. Frequency and activity phase of HHV-6 and HHV-7 persistent infection in renal transplant recipients and patients with gastrointestinal cancer // *RSU Research articles in medicine and pharmacy, Collection of Scientific Papers 2013*: 54–60.
3. Čapenko S., Ziedina I., Folkmane I., Sultanova A., Rozental R., Murovska M. The impact of beta-herpesviruses infection activation on early complications development following renal transplantation // *Current Problems of Infectious Human Pathology*, Vol. 4, 2011: 274–278.
4. Gravelina S., Nora-Krukle Z., Čapenko S., Sultanova A., Boka V., Čunskis E., Murovska M. Incidence of human herpesvirus 6, 7, and parvovirus B 19 infection in patients with thyroid gland disorders // *Current Problems of Infectious Human Pathology*, Vol. 4, 2011: 283–287.
5. Čistjakovs M., Čapenko S., Sultanova A., Nora Z., Murovska M. Cilvēka sestā herpesvīrusa (HHV-6) tipu sastopamība dažādu personu grupās Latvijā // *RSU Zinātniskie raksti 2008 Internā medicīna Ķirurģija Medicīnas bāzes zinātnes Stomatoloģija Farmācija*, 2009, lpp. 317–322.

6. Ziediņa I., Čapenko S., Folkmane I., Sultanova A., Murovska M., Jušinskis J., Rozentāls R. Poliomas-BK vīrusa un beta-herpesvīrusu reaktivācija pēc nieres transplantācijas // RSU Zinātniskie raksti 2008 Internā medicīna Ķirurģija Medicīnas bāzes zinātnes Stomatoloģija Farmācija, 2009, lpp. 81–84.
7. Муровска М., Чапенко С., Козырева С., Султанова А., Дониња С., Фолкмане И., Круминя А., Лейниече С., Лейниекс А. Бета-герпесвирусы чеповека (ВГЧ-6, ВГЧ-7), их распространение и ассоциация с патологическими процессами. Материалы Международной научно-практической конференции Вирусные инфекции: эпидемиология, клиника, лабораторная диагностика и профилактика. Минск, Государственное учреждение «НИИ эпидемиологии и микробиологии», 29-30 ноября 2007 г., стр. 93–96.
8. Sultanova A., Čapenko S., Nora Z., Doniņa S., Murovska M. Imūnsupresija kā β-herpesvīrusu aktivācijas faktors pacientiem ar kuņģa-zarnu trakta onkoloģiskām slimībām. Latvijas Universitātes raksti. 2007, sēj.: Medicīna, lpp. 20–24.
9. Murovska M., Spuris K., Nora Z., Sultanova A., Čapenko S., Lejnietis A. Limfotropo herpesvīrusu infekcija un vairogdziedzera slimības // RSU Zinātniskie raksti 2003 Internā medicīna Ķirurģija Medicīnas bāzes zinātnes Stomatoloģija Farmācija, 2003, lpp. 389–393.

7.2. Tēzes

1. Sultanova A., Cistjakovs M., Chapenko S., Gravelisina S., Nora-Krukle Z., Donina S., Lejniece S., Murovska M. Human herpesvirus 6 and 7 infection as facilitator of chronic diseases and various

complications development. 10th International Conference on New Trends in Immunosuppression, Barcelona, Spain, March 11-12, 2013: 196

2. Nora-Krukle Z., Gravelcina S., Chapenko S., Sultanova A., Cunskis E., Murovska M. Association between latent/persistent human herpesvirus 6 (HHV-6) and 7 (HHV-7) infection and diseases of thyroid gland. 8th International Congress on Autoimmunity, Granada, Spain, may 9-13, 2012.
3. Sultanova A., Cistjakovs M., Chapenko S., Donina S., Murovska M. Frequency HHV-6 and HHV-7 infection in patients with different stages of gastrointestinal cancer. 17th International Symposium on Infections in the Immunocompromised Host, Italy, Genova 24th-27th June, 2012: 65.
4. Fadeeva I., Sultanova A., Nora-Krukle Z., Murovska M. Human herpesvirus-6 and -7 reactivation in thyroid gland tissues of patients with thyroid gland disorders., XI International Congress of Medical Sciences, Sofia, Bulgaria, 03-06 May, 2012: 148.
5. Gravelcina S., Nora-Krukle Z., Sultanova A., Chapenko S., Cunskis E., Roga S., Murovska M. Human herpesvirus six and seven and parvovirus B19 infections as possible risk factors for the development of autoimmune and non-autoimmune thyroid diseases. School of translational immunology, Belgrade, Serbia, 19-21 September 2012: 45.
6. Nora-Krukle Z., Gravelcina S., Sultanova A., Chapenko S., Rasa S., Roga S., Cunskis E., Murovska M. Prevalence of HHV-6, HHV-7 and parvovirus B19 in thyroid tissue samples from patients with thyroid gland disorders and subjects with unspecified encephalopathies. 22nd

- Annual Meeting of the Society for Virology, Essen, Germany, March 14-17, 2012: 536.
7. Sultanova A., Chapenko S., Fadejeva I., Gravelsina S., Nora-Krukle Z., Cunskis E., Murovska M. HHV-6 and HHV-7 Infection in Patients with Struma nodosa III. RSU Zinātniskā konference, 2012. gada 29. un 30. martā. Rīgā, lpp. 182.
 8. Sultanova A., Chapenko S., Gravelsina S., Nora-Krukle Z., Cunskis E., Murovska M. Genomic sequences of herpesvirus 6&7 and parvovirus B 19 in DNA samples isolated from thyroid tissues. RSU Zinātniskā konference, 2011. gada 14. un 15. aprīlī, Rīgā, lpp. 225.
 9. Sultanova A., Nora-Krukle Z., Chapenko S., Cunskis E., Murovska M. HHV-6 and HHV-7 in patients with thyroid gland disorders. 36th International Herpesvirus Workshop, Gdansk 2011: 8.44
 10. Nora-Krukle Z., Sultanova A., Gravelsina S., Chapenko S., Chistyakov M., Cunskis E., Murovska M. Presence and activity of human herpesvirus-6 and 7 infections in patients with autoimmune thyroid diseases. 7th International Conference on HHV-6&7, Reston, ASV, 2011: 55.
 11. Chistjakovs M., Donina S., Chapenko S., Sultanova A., Murovska M. Immunological parameters in colorectal cancer patients with latent and active beta-herpesviruses infection. Acta Chirurgica Latviensis. 5th Baltic Congress of Oncology. 2010: 19.
 12. Sultanova A., Chapenko S., Chistjakovs M., Donina S., Murovska M. Influence of HHV-6 and HHV-7 infection on proinflammatory interleukines' levels in colorectal cancer patients before and after surgery. Acta Chirurgica Latviensis. 5th Baltic Congress of Oncology. 2010: 25–26.

13. Ziediņa I., Folkmane I., Čapenko S., Murovska M., Sultanova A., Jušinskis J., Rozentāls R. Poliomas BK vīrusa un beta-herpesvīrusu reaktivācija agrīnā periodā pēc transplantācijas. Rīgas Stradiņa Universitāte, 2008.gada Zinātniskā konference. Tēzes, 2008: 122.
14. Čapenko S., Donina S., Sultanova A., Jaunalksne I., Kozireva S., Murovska M. Clinical relevance of HHV-6 and HHV-7 infection in gastrointestinal cancer patients at different stages of the disease. International Congress of Virology, 10-16 August 2008, Istanbul. Abstract Book: 396.
15. Čistjakovs M., Čapenko S., Sultanova A., Nora Z., Murovska M. Cilvēka sestā herpesvīrusa (HHV-6) tipu sastopamība dažādu personu grupām Latvijā. RSU Zinātniskā konference, 2008. gada 13. un 14. martā., Rīgā, lpp. 141.
16. Donina S., Čapenko S., Sultanova A., Jaunalksne I., Engele L., Murovska M. Influence of HHV-6 and HHV-7 activation on immunological parameters in colorectal cancer patients. The 35th Meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, ISOBM 2007, September 15-19, 2007, Prague, Czech Republic. Tumor Biology, 2007, 28 (suppl.), p. 121.
17. Čapenko S., Donina S., Sultanova A., Nora Z., Murovska M. Effect of immunodepression on the activation of beta-herpesviruses in colorectal cancer (CRC) patients. 12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of FOCIS, 2004, Montréal, Canada. Clinical and Investigative Medicine, 2004, Vol. 27, No 4, p. 150B.

8. ATSAUCES

1. Caiola D., Karras A., Flandre P., et al. Confirmation of the low clinical effect of human herpesvirus-6 and -7 infections after renal transplantation // *Journal of medical virology*, 2012; 84 (3): 450–456.
2. Caselli E., Zatelli M. C., Rizzo R., et al. Virologic and immunologic evidence supporting an association between HHV-6 and Hashimoto's thyroiditis // *PLoS pathogens*, 2012; 8 (10): e1002951.
3. Chan P. K., Li C. K., Chik K. W., et al. Risk factors and clinical consequences of human herpesvirus 7 infection in paediatric haematopoietic stem cell transplant recipients // *Journal of medical virology*, 2004; 72 (4): 668–674.
4. Chapenko S., Folkmane I., Ziedina I., et al. Association of HHV-6 and HHV-7 reactivation with the development of chronic allograft nephropathy // *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 2009; 46 (1): 29–32.
5. Chapenko S., Folkmane I., Tomsone V., et al. Infection of β -herpesviruses (CMV, HHV-6, HHV-7): role in postrenal transplantation complication // *Transplantation proceedings*, 2001; 33 (4): 2463–2464.
6. Csoma E., Mészáros B., Gáll T., et al. Dominance of variant A in human herpesvirus 6 viraemia after renal transplantation // *Virology journal*, 2011; 8: 403.
7. Grima P., Chiavaroli R., Calabrese P., et al. Severe hepatitis with autoimmune features following a HHV-6: a case report // *Cases journal*, 2008; 1 (1): 110.

8. Helanterä I., Loginov R., Koskinen P., Lautenschlager I. Demonstration of HHV-6 antigens in biopsies of kidney transplant recipients with cytomegalovirus infection // *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*, 2008; 21 (10): 980–984.
9. Holden S. R., Vas A. L. Severe encephalitis in a haematopoietic stem cell transplant recipient caused by reactivation of human herpesvirus 6 and 7 // *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 2007; 40 (3): 245–247.
10. Lacroix A., Collot-Teixeira S., Mardivirin L., et al. Involvement of human herpesvirus-6 variant B in classic Hodgkin's lymphoma via DR7 oncoprotein // *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 2010; 16 (19): 4711–4721.
11. Lempinen M., Halme L., Arola J., et al. HHV-6B is frequently found in the gastrointestinal tract in kidney transplantation patients // *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*, 2012; 25 (7): 776–782.
12. Lucas A., McFadden G. Secreted immunomodulatory viral proteins as novel biotherapeutics // *The Journal of immunology*, 2004; 173 (8): 4765–4774.
13. Mocarski E. S. Jr. Immunomodulation by cytomegaloviruses: manipulative strategies beyond evasion // *Trends in microbiology*, 2002; 10 (7): 332–339.
14. Ogata M., Satou T., Kawano R., et al. High incidence of cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and Epstein-Barr virus reactivation in patients receiving cytotoxic chemotherapy for adult T cell leukemia // *Journal of medical virology*, 2011; 83 (4): 702–709.

15. Puri R. K., Leland P., Razzaque A. Antigen(s)-specific tumour-infiltrating lymphocytes from tumour induced by human herpes virus-6 (HHV-6) DNA transfected NIH 3T3 transformants // *Clinical and experimental immunology*, 1991; 83 (1): 96–101.
16. Siddon A., Lozovatsky L., Mohamed A., Hudnall S. D. Human herpesvirus 6 positive Reed-Sternberg cells in nodular sclerosis Hodgkin lymphoma // *British journal of haematology*, 2012; 158 (5): 635–643.
17. Sprengers D., Janssen H. L. Immunomodulatory therapy for chronic hepatitis B virus infection // *Fundamental & clinical pharmacology*, 2005; 19 (1): 17–26.
18. 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) // *Annals of hematology*, 2011; 90 (7): 851–852.
19. Zawilinska B., Kopec J., Szostek S., et al. Lymphotropic herpesvirus DNA detection in patients with active CMV infection - a possible role in the course of CMV infection after hematopoietic stem cell transplantation // *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 2011; 17 (8): 432–441.