

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.309>

<https://orcid.org/0000-0003-0971-2381>

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Marija Svetikienė

Pooperacinės imunomitybos poveikis
ląsteliniam ir sisteminiam
uždegiminiam atsakui bei išeitims
mažos operacinės rizikos ligoniams po
širdies operacijų

DAKTARO DISERTACIJA

Medicinos ir sveikatos mokslai,
Medicinos kryptis (M 001)

VILNIUS 2022

Disertacija rengta 2016–2021 metais Vilniaus universiteto ligoninėje Santaros klinikos.

Mokslinė vadovė – **prof. dr. Jūratė Šipylaitė** (Vilniaus universitetas ,
medicinos ir sveikatos mokslai, medicina -

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.309>

<https://orcid.org/0000-0003-0971-2381>

VILNIUS UNIVERSITY

Marija Svetikienė

Effects of postoperative
immunonutrition on cellular and
systemic immune responses and
outcomes in low-risk cardiac surgery

DOCTORAL DISSERTATION

Medicine and Health sciences,

Medicine (M 001)

VILNIUS 2022

The dissertation was prepared between 2016 and 2021 at Vilnius University Hospital Santaros klinikos.

Academic supervisor – **Prof. Dr. Jūratė Šipylaitė** (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine, M 001)

TURINYS

SANTRUMPOS	8
1. ĮVADAS	10
1.1. Tiriamosios problemos aktualumas	10
1.2. Darbo tikslas.....	12
1.3. Darbo uždaviniai	12
1.4. Darbo mokslinis naujumas ir reikšmė.....	12
2. LITERATŪROS APŽVALGA	15
2.1. Imuninis atsakas į antigeną.....	15
2.1.1. Įgimtas (nespecifinis) imuninis atsakas	15
2.1.1.1. Pažeidimo sukelti molekuliniai modeliai (DAMP)	16
2.1.1.1.1. Karščio šoko baltymai (HSP).....	16
2.1.1.1.2. Laisvieji radikalai	17
2.1.1.1.3. Didelio judrumo grupės dėžutės baltymas 1 (HMGB1).....	19
2.1.1.2. Nespecifinio imuniteto ląstelės, citokinai ir ūmios fazės baltymai.....	19
2.1.1.2.1. C reaktyvusis baltymas, procalcitoninas ir ūmios fazės baltymai	21
2.1.1.3. Audinių suderinamumo kompleksas (MHC) ir antigeną pateikiančios ląstelės (APL)	25
2.1.2. Specifinis (adaptacinis) imuninis atsakas.....	27
2.1.2.1. T limfocitų sukeltas imuninis atsakas	27
2.1.2.1.1. T ląstelių aktyvacija ir diferenciacija	28
2.1.2.1.2. Atminties T limfocitai.....	33
2.1.2.2. B limfocitų atsakas (humoralinis imunitetas).....	35
2.2. Imuninis atsakas, sukeltas širdies operacijų su DKA.....	37
2.3. Kardiochirurginiai ligoniai	41
2.4. Imunomityba	44
3. TYRIMO METODIKA.....	48
3.1. Tiriamieji ir jų atranka.....	48
3.1.1. Įtraukimo ir atmetimo kriterijai	49

3.1.2. Duomenys ir jų rinkimas	50
3.1.3. Demografiniai rodikliai	50
3.1.4. Gretutinės ligos ir rizikos įvertinimo skalės.....	50
3.1.5. Operacijos duomenys	54
3.1.6. Bendrieji priešoperaciniai laboratoriniai tyrimai	55
3.1.7. Imunologinės būklės vertinimas	56
3.1.8. Bioelektrinio impedanso analizės metodas ir fazės kampo interpretacija.....	57
3.1.8.1. Tyrimo metodikos aprašymas	58
3.2. Tiriamosios grupės ir imunomityba	59
3.3. Imuninės sistemos vertinimas.....	60
3.3.1. CD3+ ir subpopuliacijų CD4+, CD8+ įvertinimas.....	60
3.3.2. T ląstelių aktyvacijos įvertinimas	61
3.3.3. Sisteminio uždegiminio atsako žymenys	61
3.4. Klinikinių baigčių vertinimas	62
3.4.1. Ankstyvosios baigtys	62
3.4.2. Vėlyvosios baigtys.....	64
3.5. Statistinė analizė.....	64
4. TYRIMO REZULTATAI	67
4.1. Tiriamųjų atranka	67
4.1.1. Tiriamųjų apžvalga pagal rizikos skales	68
4.1.2. Tiriamųjų bendrųjų charakteristikų analizė	74
4.2. Kraujo produktų naudojimas	79
4.3. Neimunologinių laboratorinių tyrimų vertinimas	79
4.3.1. Laboratorinių tyrimų vertinimas prieš operaciją	79
4.3.2. Laboratorinių tyrimų vertinimas šeštą pooperacinę parą	80
4.4. Imunologinis pacientų vertinimas.....	81
4.4.1. Imunologinis vertinimas prieš operaciją	81
4.4.2. Imunologinis vertinimas šeštą pooperacinę parą	82
4.4.2.1. Leukograma ir T ląstelių skaičius šeštą pooperacinę parą... 82	
4.4.2.2. T ląstelių aktyvacija – CD69+ žymuo.....	84

4.4.2.3. Nespecifinis imuninis atsakas – citokinai	86
4.4.2.4. Koreliacinė T ląstelių analizė.....	87
4.4.2.5. Regresinė T ląstelių skaičiaus analizė	89
4.5. Klinikinės baigtys.....	90
4.5.1. Ankstyvosios baigtys.....	90
4.5.1.1. STS klinikinės baigtys	90
4.5.1.2. Pooperacinės infekcinės komplikacijos	92
4.5.1.3. Inkstų funkcijos pažeidimas.....	93
4.5.1.3.1. Logistinė regresija	96
4.5.1.4. Pooperacinė gydymo trukmė ir pakartotinis perkėlimas į RITS.....	97
4.5.2. Vėlyvosios baigtys.....	98
4.5.2.1. Pakartotinė hospitalizacija per metų laikotarpį	98
4.5.2.2. Vienerių metų išgyvenamumas.....	99
5. REZULTATŲ APTARIMAS.....	101
5.1. Specifinė tiriamųjų grupė	102
5.2. Bendrųjų laboratorinių tyrimų vertinimas šeštą pooperacinę parą ..	105
5.3. Imunologinių tyrimų vertinimas šeštą pooperacinę parą.....	105
5.3.1. T ląstelių pokyčių vertinimas.....	106
5.3.2. T ląstelių aktyvacijos vertinimas <i>in vitro</i>	109
5.3.3. Citokinai ir prokalцитoninas	110
5.4. Pooperacinės klinikinės baigtys.....	111
5.4.1. Ankstyvosios klinikinės baigtys	111
5.4.2. Vėlyvosios klinikinės baigtys	113
TYRIMO RIBOTUMAI.....	117
IŠVADOS	118
PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS	118
LITERATŪRA.....	119
PUBLIKACIJOS DISERTACIJOS TEMA.....	148
PRANEŠIMAI TARPTAUTINĖSE KONFERENCIJOSE.....	148
APIE AUTORIŲ.....	150

SANTRUMPOS

- AKJO – aortokoronarinių jungčių suformavimo operacija
- APL – antigeną pateikiančios ląstelės
- ASA – Amerikos anesteziologų draugijos (angl. *American Society of Anesthesiologists*) fizinės būklės klasifikavimo sistema
- AVP – aortos vožtuvo protezavimas
- BCR – B ląstelių receptoriai
- BIA – bioelektrinis impedansas
- cAMP – ciklinis adenozino monofosfatas
- CARS – kompensacinio antiuždegiminio atsako sindromas (angl. *compensatory antiinflammatory response syndrome*)
- CCI – Charlson sergamumo indeksas (angl. *Charlson comorbidity index*)
- CD – cukrinis diabetas
- CRB – C reaktyvusis baltymas
- CTL – citotoksiniai T limfocitai
- DAMP – su pažeidimu susiję molekuliniai modeliai (angl. *damage associated molecular patterns*)
- DKA – dirbtinė kraujo apytaka
- DPV – dirbtinė plaučių ventiliacija
- EACTS – Europos širdies ir krūtinės chirurgijos asociacija (angl. *European Association for Cardio-Thoracic Surgery*)
- ESC – Europos kardiologų draugija (angl. *European Society of Cardiology*)
- ESPEN – Europos enterinės ir parenterinės mitybos (angl. *European Enteral and Parenteral Nutrition*) draugija
- FK – fazės kampas
- GFG – glomerulų filtracijos greitis
- HLA-DR – žmogaus leukocitų antigenas (angl. *human leukocyte antigen*)
- HMGB1 – didelio judrumo grupės dėžutės baltymas 1 (angl. *high mobility group box protein 1*)
- HSP – karščio šoko baltymai (angl. *heat shock proteins*)
- IFN – inkstų funkcijos nepakankamumas
- Ig – imunoglobulinas
- IL – interleukinas
- IM – imunomitybos (tiriamųjų grupė)
- INF – interferonas
- JAV – Jungtinės Amerikos Valstijos
- JK – Jungtinė Karalystė
- K – kontrolinė (tiriamųjų grupė)

KDIGO – Tarptautinės nefrologų draugijos įkurta organizacija (angl. *Kidney Disease Improving Global Outcomes*)

KK – kreatinino klirensas

KMI – kūno masės indeksas

KS IF – kairiojo skilvelio išstūmimo frakcija

LPS – lipopolisacharidas

MAC – membranos atakos kompleksas (angl. *membrane attack complex*)

MHC – žmogaus audinių suderinamumo kompleksas (angl. *major histocompatibility complex*)

MSB – manozę sujungiantis baltymas

MVP – mitralinio vožtuvo protezavimas

NK – natūralieji kileriai

NYHA – Niujorko širdies asociacijos (angl. *New York Heart Association*) lėtinio širdies nepakankamumo klasifikacija

OS – oksidacinis stresas

PAH – pirminė arterinė hipertenzija

PAMP – su patogenu susiję molekuliniai modeliai (angl. *pathogen associated molecular patterns*)

PBMC – periferinio kraujo vienbranduolės ląstelės (angl. *peripheral blood mononuclear cells*)

PCT – prokalcioninas

PGE2 – prostaglandinas E2

PKI – perkutaninė koronarinė intervencija

PLT – trombocitai

PRR – nespecifinio imuninio atsako ląstelėse esantys ir antigeną atpažįstantys receptoriai (angl. *pattern recognition receptors*)

PSO – Pasaulio sveikatos organizacija

RIFLE – ūminio inkstų pažeidimo klasifikacija (angl. **Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage kidney disease**)

RITS – reanimacijos ir intensyviosios terapijos skyrius

STS – Krūtinės chirurgų draugija (angl. *Society of Thoracic Surgeons*)

SUAS – sisteminio uždegiminio atsako sindromas

TCM – centrinės atminties ląstelės

TCR – T ląstelių receptoriai

TEM – efektorinės atminties ląstelės

TNF – navikų nekrozės faktorius

TRM – audiniuose reziduojančios atminties T ląstelės

TVpl – triburio vožtuvo plastika

1. ĮVADAS

1.1. Tiriamosios problemos aktualumas

Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) duomenimis, širdies ir kraujagyslių sistemos ligos jau daugiau nei tris dešimtmečius išlieka pagrindine mirties priežastimi visame pasaulyje. 2019 m. PSO registro duomenimis, vien mirtys nuo išeminė širdies ligos sudarė 16 % visų priežasčių (1). Higienos instituto Sveikatos informacijos centras skelbia, kad Lietuvoje 2019 m. širdies ir kraujotakos sistemos ligos sudarė 54,6 % (2) visų mirčių priežasčių. Galime teigti, jog nepaisant daugybės nuolat atliekamų tyrimų prevencijos, diagnostikos ir gydymo srityse problema išlieka labai aktuali.

Praėjusio amžiaus 6-ajame dešimtmetyje į klinikinę praktiką įdiegus dirbtinę kraujo apytaką (DKA), širdies chirurgija tapo esminiu metodu gydant išeminę širdies ligą (IŠL) sergančius bei vožtuvų patologiją turinčius ligonius (3). Vėliau, atsiradus ir išpopuliarėjus perkutaninei koronarinei intervencijai (PKI) bei kitiems intervencinės kardiologijos metodams, širdies operacijų populiarumas bei skaičius mažėjo visame pasaulyje. Vis spartesnė naujų technologijų pažanga bei noras užtikrinti kokybiškas sveikatos priežiūros paslaugas, maksimaliai sumažinant operacinę riziką, lėmė požiūrį, jog ilgainiui atviros širdies operacijos turėtų būti pakeistos minimaliai invazyviomis metodikomis. Tačiau daugiacentrės studijos (4, 5, 6, 7, 8, 9), palyginusios IŠL sergančių ligonių, kuriems buvo atlikta PKI, ir ligonių, kuriems buvo atlikta aortokoronarinių jungčių suformavimo operacija (AKJO), rezultatus, visgi aiškiai parodė, jog esant labiau pažengusiai ligai AKJO grupėje ilgalaikiai rezultatai atsižvelgiant į išgyvenamumo rodiklius buvo geresni nei PKI grupėje (10). Chirurginis gydymas taip pat išlieka aukso vertės standartu gydant progresuojančias širdies vožtuvų ligas (11). Taigi, aiškiai matome, jog operacinis gydymas tebėra labai svarbi ir nepakeičiama širdies ir kraujagyslių sistemos ligų kompleksinio gydymo dalis. 2019 m. Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV) buvo atlikta 6 903 706 širdies operacijos (12), Jungtinėje Karalystėje (JK) – 32 295 (13), Lietuvoje – apie 2 000 (14). Taigi, širdies operacijų skaičius, nors ir šiek tiek mažėjantis kasmet, tačiau išlieka didelis ir aktualus (13).

Per pastaruosius 30 metų vystantis technologijoms, gerėjant diagnostikos galimybėms, sveikatos priežiūros prieinamumui bei paslaugų kokybei, pooperacinis mirštamumas yra labai sumažėjęs. Buvo apskaičiuota, jog vien per laikotarpį nuo 1995 m. iki 2010 m. mirštamumas per 30 dienų po širdies operacijų sumažėjo beveik 26 % ir buvo 3,9 % (15). 2019 m. metinėse ataskaitose buvo pateiktas bendras pooperacinis mirštamumas: 1,8 % planinių

operacijų ir 2,74 % visų operacijų 2018 m. JK (13) bei, priklausomai nuo operacijos tipo bei sudėtingumo, nuo 2,2 % iki 5,4 % JAV (12). Tačiau mirštamumas nėra vienintelis paslaugų kokybės ar jų ekonominio efektyvumo rodiklis. Ypač vėlyvasis mirštamumas retai kada tiesiogiai koreliuoja su komplikacijų dažniu ar hospitalizacijos trukme po operacijos (16). Pooperacinės komplikacijos: širdies, kvėpavimo sistemos, neurologinės ligos, inkstų funkcijos sutrikimas ir įvairios infekcinės komplikacijos bei ilgas gydymas reanimacijos ir intensyvios terapijos skyriuje ne tik apibūdina sveikatos priežiūros paslaugų kokybę, tačiau yra tiesiogiai susijusios su ligonių gyvenimo kokybe po širdies operacijos, jų darbingumu, netgi ilgalaikiu išgyvenamumu (17, 18). Panagrinėjus atidžiau paaiškėja, kad sergamumas arba komplikacijų dažnis po širdies operacijų, priklausomai nuo operacijos tipo ir priešoperacinės ligonio būklės, išlieka didelis – net iki 42 % (12). Visa tai galima paaiškinti tuo, jog, patobulėjus chirurginei technikai bei įdiegus naujas metodikas, atsiradus naujoms kraujo bei kraujo produktų apdorojimo bei panaudojimo galimybėms, taip pat gerokai patobulėjus intensyviosios terapijos darbo metodikoms bei visai technikai, operuojami vis senesni ir sudėtingesnės būklės ligoniai (16, 18, 19). Yra apskaičiuota, jog Danijoje nuo 1999 m. iki 2012 m. kardiologinių pacientų amžius padidėjo 4 metais (19) ir jis nuolat didėja visame pasaulyje. Taip pat šiame tyrime buvo apskaičiuota, jog nors 30 dienų išgyvenamumas pagėrėjo 40 % ir siekė 2,44 %, vienerių metų mirštamumas visgi išliko šiek tiek didesnis nei 6 % (19). Panašius rodiklius pateikia ir kitose šalyse atliktos studijos (17, 18). Taigi, sergamumas bei gyvenimo kokybė po širdies operacijų išlieka didžiule problema, kuriai reikia dėmesio.

Širdies operacijos su DKA sukelia ženklus homeostazės pokyčius ir daugiau ar mažiau stiprią imuninę reakciją (20). Priklausomai nuo jos stiprumo ir ligonio fiziologinio rezervo, tai gali daryti tiesioginę įtaką pooperaciniam sergamumui ir, savo ruožtu, ligonio gyvenimo kokybei (21, 22).

Netgi visiškai nekomplikuotos širdies operacijos su DKA mažos rizikos ligoniams gali sukelti visą spektrą sisteminio uždegiminio atsako (SUAS) simptomų: nuo karščiavimo, leukocitozės, tachikardijos, hipotenzijos ir skysčių kaupimosi neląsteliniam tarpe iki lengvo dauginio organų disfunkcijos sindromo – lengvo inkstų pažeidimo, plaučių edemos, sąmonės ar žarnyno motorikos sutrikimo (23, 24).

Dažniausiai mažos rizikos kardiologiniams ligoniams tai tebūna lengvas sveikatos sutrikdymas dėl turimo gero fiziologinio rezervo, kurį užtikrina dauguma gerai veikiančių organų sistemų. Tačiau, kaip jau minėta, širdies operacijos atliekamos vis vyresniems ligoniams, dažnai daug metų

sergantiems cukriniu diabetu (CD) ar pirmine arterine hipertenzija (PAH) – būklėmis, kurios ilgainiui paveikia homeostazę ir mažina priešoperacinę fiziologinę rezervą, kuri labai sunku įvertinti mūsų standartiniais testais ir priešoperacinėmis skalėmis (24).

1.2. Darbo tikslas

Nustatyti ankstyvosios pooperacinės peroralinės imunomitybos glutamino ir antioksidantų pagrindu moduluojamąjį poveikį imuninei sistemai ir sąsajas su sisteminio uždegiminio atsako sindromu ir baigtimis po širdies operacijų mažos rizikos pacientams.

1.3. Darbo uždaviniai

Tiriant mažos operacinės rizikos kardiochirurginius ligonius, turinčius sumažėjusį ląstelių gyvybingumą, nustatyti ankstyvosios pooperacinės peroralinės imunomitybos glutamino ir antioksidantų pagrindu įtaką:

- ląsteliniam imunitetui;
- sisteminiam uždegiminiam atsakui;
- ankstyvosioms ir vėlyvosioms baigtims.

1.4. Darbo mokslinis naujumas ir reikšmė

Šio tyrimo dalyvių atrankos procesas buvo sukurtas siekiant suformuoti labai selektyvią ir homogenišką kohortą iš mažos operacinės rizikos, bet turinčių pablogėjusį ląstelių gyvybingumą bei fiziologinę rezervą pacientų, kuriems buvo atlikta širdies operacija VUL Santaros klinikų Širdies chirurgijos centre. Imunomityba šiame tyrime yra iškeliamą kaip hipotezė, galimybė ir galbūt išeitis stabilizuoti imuninį atsaką ir gerinti klinikines baigtis po širdies operacijų. Siekiant suformuoti mažos operacinės rizikos grupę, į tyrimą buvo įtraukti tik planiniai ligoniai, turintys gerą kairiojo skilvelio išstūmimo frakciją (KS IF >40 %), neturintys sunkios plautinės hipertenzijos ir nesantys kritinės būklės, taip pat ligoniai, kurių tiek operacijos eiga, tiek ankstyvasis pooperacinis laikotarpis buvo sklandūs. Operacinei rizikai įvertinti buvo naudojama įprasto širdies chirurgijos rizikos stratifikavimo įrankio – EuroScore II reikšmė, nurodanti apskaičiuotą mažą pooperacinį mirštamumą pasirinktoje kohortoje – mažiau nei 2 % (25). Norėdami įvertinti šių pacientų ląstelių gyvybingumą ir netiesiogiai įvertinti jų fiziologinę rezervą, mes taip pat atlikome bioelektrinio impedanso analizę (BIA) ir kaip atrankos kriterijų pasirinkome gautą fazės kampo (FK) vertę. Kadangi nėra aiškios fazės kampo

vertės, atspindinčios širdies chirurgijos pacientų pažeidžiamumą, rėmėmės A. Bosa-Westphal ir kolegų (26) tyrimu, jų suformuota didžiule duomenų baze bei skaičiavimais, kur atsižvelgiant į rasę, amžių ir kūno masės indeksą (KMI) nustatyta, kokia turėtų būti fazės kampo vertė, žyminti normą. Atsižvelgdami į dažniausiai VUL Santaros klinikų Širdies chirurgijos centre operuojamus ligonius, mes parinkome fazės kampo vertę mažesnę nei 5,5. Taigi, kaip jau minėta, tiriamųjų grupę sudarė mažos operacinės rizikos ligoniai, turintys mažesnę fiziologinį rezervą.

Imunomityba kaip galimybė stabilizuoti imuninį atsaką ir gerinti baigtis po didelės apimties operacijų bei kritinės būklės ligoniams yra tyrinėjama daugiau nei 20 metų. Daugelyje klinikinių tyrimų buvo įrodytas teigiamas imunitetą veikiančių medžiagų (omega-3 riebalų rūgščių, arginino, glutamino ir kt.) (27, 28, 29, 31, 32) poveikis pooperaciniams ligoniams, taip pat esant sunkiai traumai bei nudegimams.

Mes imunomitybai pasirinkome peroralinį glutamino, vitaminų ir antioksidantų mišinį. Glutaminas yra sąlyginai būtina aminorūgštis, kuri atlieka svarbų vaidmenį formuojantis nespecifiniam ir ypač specifiniam ląsteliniam imuniniam atsakui bei palaikant žarnyno gleivinės vientisumą, tuo prisidedant prie geresnių klinikinių baigčių (33, 34). Juo labiau kad yra studijų, patvirtinusių glutamino koncentracijos sumažėjimo kraujyje įtaką klinikinėms baigtims po širdies operacijų (35): H. Buter su kolegomis atlikto tyrimo duomenimis, lyginant priešoperacinę glutamino koncentraciją kraujyje su pooperacine, glutamino kiekis buvo smarkiai sumažėjęs ir tai buvo susiję su didesniu infekcinių komplikacijų dažniu. Tačiau vertinant duomenų bazėse „PubMed“ ir „Cochrane“ publikuotas studijas pastebėta, kad niekas ligi šiol nėra tyręs pooperacinės imunomitybos glutaminu įtakos šiems ligoniams ir baigtims po širdies operacijų. Ši studija yra pirmoji, tyrinėjanti pooperacinės imunomitybos poveikį standartiniam planiniam kardiochirurginiam ligoniui, kuris nors yra mažos operacinės rizikos, tačiau gali turėti gana platų spektrą pooperacinių komplikacijų, lemiančių jo gyvenimo kokybę ir ilgalaikį išgyvenamumą po širdies operacijos.

Mūsų tiriamieji randomizacijos būdu buvo suskirstyti į imunomitybos (IM) ir kontrolinę (K) grupes: IM grupė 5 paras šalia standartinės mitybos vartojo imunomišinį su glutaminu, K grupės tiriamiesiems buvo taikyta standartinė dieta. Abiem grupėms prieš operaciją buvo ištirti bendrieji sisteminio uždegiminio atsako žymenys (C reaktyvusis baltymas (CRB), leukocitų kiekis su leukograma, prokalcitoninas, interleukinas 6 (IL-6), interleukinas-10 (IL-10), navikų nekrozės faktorius alfa (TNF- α) bei ląstelinio imuniteto žymenys

(CD3+, CD4+, CD8+ ląstelės, jų santykis). Pritaikius tėkmės citometrijos metodą, buvo įvertintas šių ląstelių gebėjimas aktyvintis *in vitro*. Paveikus ląsteles fitomutagenu *in vitro*, tėkmės citometru buvo išmatuotos CD4+CD69+ ir CD8+CD69+ koncentracijos. CD69 – neseniai praktikoje atsiradęs labai ankstyvas T limfocitų aktyvacijos žymuo. Jį stebėdami ir vertindami galime žinoti, kiek T limfocitų, stimuliuotų antigenais *in vitro*, aktyvinasi ir gali dalyvauti imuniniame atsake. Šeštą pooperacinę dieną abiem grupėms buvo pakartota SUAS žymenų bei ląstelinio imuniteto ląstelių ir jų aktyvacijos žymens tyrimai. Buvo registruojamos pooperacinės baigtys ir komplikacijos visą hospitalizacijos laiką bei 30 dienų po operacijos ir palygintos tarp grupių.

Studijos, atliktos su gyvūnais (36, 37) ir intensyviosios terapijos bei sunkią traumą ar didelės apimties operaciją patyrusiais ligoniais (38, 39), įrodė teigiamą glutamino poveikį tiek citokinų išsiskyrimui, tiek T ląstelių skaičiaus padidėjimui ir balanso išlaikymui, tiek klinikinių baigčių pagerinimui. Tačiau nors glutaminas, atrodytų, savo poveikiu ir būtų palankus imuninio atsako moduliavimui po širdies operacijų, nėra nė vienos studijos, tyrusios pooperacinės imunomitybos poveikį šiems ligoniams. Pasitvirtinus hipotezei, jog išties glutaminas padės sumažinti imunosupresiją dėl T ląstelių sumažėjimo, ar tai bus tik T ląstelių skaičiaus padidėjimas ir kaip jis veiks jų aktyvaciją, lieka neaišku. Taigi, šiuo tyrimu stengėmės labiau suprasti imunomitybos glutaminu indėlį į fiziologinius procesus bei numatyti ateities perspektyvas tiek papildant kardiochirurginių ligonių gydymo taktiką, tiek planuojant naujus tyrimus.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.2. Imuninis atsakas į antigeną

Imunitetas yra organizmo apsaugos būdas, kurio pagrindinė užduotis – išsaugoti organizmo vidinę homeostazę, apginti nuo visko, kas jam genetiškai svetima (40). Šiuo metu žinoma, jog bet koks ūminis pažeidimas (didelės apimties operacija, nudegimai, sunki infekcija) sukelia sisteminio uždegiminio atsako sindromą – uždegimą skatinančią imuninio atsako fazę, kurią lydi uždegą slopinanti fazė, galop sukelti imunosupresijos būklę (40, 41). Imuninis atsakas gali būti be galo naudingas, tačiau gali būti ir labai žalingas, priklausomai nuo tipo, eigos ir dirgiklio trukmės. Tiriant ligonius, patyrusius didelės apimties operaciją, traumą, sepsį ar nudegimus, nustatyta, jog „genominė audra“ per pirmas valandas pakeičia net iki 80 % normalios leukocitų genų transkripcijos, labai padidindama nespecifinio imuniteto ir sumažindamas specifinio imuniteto aktyvumą, ir tai yra susiję su nepageidaujamomis klinikinėmis baigtimis (42, 43, 44). Daugybė studijų, nagrinėjančių leukocitų transkripciją esant intensyviai imuniniam atsakui, atskleidė įdomią tiesą: nors pažeidimo etiologija labai skiriasi, tačiau imuninis atsakas reaguoja į tai labai panašiais modeliais (45). Taigi daugybė tyrimų, atliktų nagrinėjant sepsio sukeltą imuninį atsaką ir patofiziologiją, leido paaiškinti ir kitų etiologinių veiksnių sužadintą imuninį atsaką bei planuoti terapijos modelius klinikiniame darbe ir moksle.

2.2.1. Įgimtas (nespecifinis) imuninis atsakas

Pirmoji imuninės gynybos linija yra vadinamasis įgimtas, arba nespecifinis, imuninis atsakas. Tai serija stereotipinių nespecifinių reakcijų, skirtų greitai reaguoti į su patogenais susijusius molekulinis modelius (angl. *pathogen associated molecular patterns* – PAMP) ar su pažeidimais susijusius molekulinis modelius (angl. *damage associated molecular patterns* – DAMP) (41, 45, 46). PAMP paprastai yra tai, ką turi mikroorganizmai: šie modeliai gali būti randami ant bakterijų sienelių arba būti sienelių dalis, DNR, lipoproteinai, karbohidratai ir kitos struktūros (47). Kaip pavyzdys galėtų būti gerai žinomas PAMP – lipopolisacharidas (LPS), randamas ant išorinės gramneigiamų bakterijų sienelės. Bakterijai prasiskverbus per fiziologinius barjerus (odą, gleivines) į audinius, šis antigenas tuojau atpažįstamas ir į jį iš karto reaguoja nespecifinis imuninis atsakas (47). Kas yra PAMP, kas inicijuoja

imuninį atsaką esant infekcijai, atrodo, visiems aišku. Tačiau, kas būtent inicijuoja imuninį atsaką nesant infekcijos? Kas sukelia imunines reakcijas, tarkim, didelės apimties operacijos ar traumos metu? Kas yra DAMP?

2.1.1.1. Pažeidimo sukelti molekuliniai modeliai (DAMP)

DAMP – yra tie imuninės sistemos trigeriai, kurie randami paties šeimininko organizmo ląstelėse. Juos išskiria navikinės ląstelės, mirusios ir mirštančios ląstelės, taip pat ląstelės, signalizuodamos apie hipoksiją (46, 48). Kadangi tai yra paties šeimininko ląstelių sukelti modeliai, DAMP sukeliamas uždegiminis atsakas vadinamas steriliu, arba aseptiniu. Trumpai tariant, DAMP yra viduląstelinės nemikrobinės molekulės, normaliomis sąlygomis paslėptos tam, kad nebūtų atpažintos „patruliuojančios“ organizme imuninės sistemos (48). Tai gali būti ląstelės dalys: mitochondrijos, RNR, DNR dalys, organelės, sienelės fragmentai. Normaliai jos gyvena ląstelės viduje ir imuninė sistema jų nepažįsta (49). Jos tampa signalinėmis esant ląstelės pažeidimui ar nekrozei (ne apoptozei), sužadina nespecifinį imunitetą, kuris reaguodamas tiesiogiai sukelia uždegimą, o netiesiogiai – aktyvina ir teikia informaciją specifiniam imuniniam atsakui (45).

2.1.1.1.1. Karščio šoko baltymai (HSP)

Karščio šoko baltymai (angl. *heat shock proteins* – HSP) – tai ląstelių streso baltymai. HSP yra baltymų šeima (HSP100, 90, 70, 60 ir kt.), ir kiekvienas jų yra atsakingas už daugybę funkcijų, siekiant išsaugoti ląstelę gyvą ir funkcionuojančią (50). Taip šie baltymai pavadinti todėl, jog 1962 m. buvo pirmą kartą rasti aukšta temperatūra paveiktų vaisinės muselės lervų organizme (51). Ląstelė, paveikta aukštos temperatūros ar kito žalojančio veiksnio (pvz. audinių pažeidimas, hipoksija, temperatūrų skirtumas), reaguoja, joje pakinta daugelis fiziologinių procesų: sumažėja mRNR translacija ir normalių ląstelės baltymų sintezė, silpsta ląstelės fermentiniai procesai, atsiranda įvairių morfologinės alteracijos požymių (pvz. ląstelės organelių ir chromatino pokyčiai). Tuomet pati ląstelė įjungia savo apsaugos mechanizmus, už kuriuos ir yra atsakingi streso baltymai (HSP) (50). Susijungę su kitais baltymais, jie saugo ląstelę nuo denatūruotų arba nevisiškai susintetintų baltymų žalingo poveikio, perneša juos iš citozolio į ląstelės membraną arba organeles (mitochondrijas, lizosomas, branduolį, endoplazminį tinklą) – kur jie

nedarytų tiek daug žalos esant pasikeitusioms aplinkybėms, kiek būdami citozolyje. Būtent dėl šios funkcijos jie dar vadinami šaperonais (pranc. *chaperonner* – lydėti, globoti) (52). Stresinėmis aplinkybėmis (pvz. esant audinių pažeidimui, hipoksijai) ląstelė pati indukuoja už streso baltymų transkripciją atsakingų genų ekspresiją, ir ši padidėjusi šaperonų sintezė saugo audinius nuo nekrozės išplitimo (53). Tačiau homeostazės palaikymas ląstelės viduje nėra vienintelė šios baltymų šeimos funkcija. Pastaruoju metu atliktų keletas vėžio imunologijos ir vėžio gydymo tyrimų parodė, kad streso baltymų randama ir neląsteliniame tarpe, net ir esant normaliai fiziologinei būklei (54, 55). Normaliomis sąlygomis jų koncentracija neląsteliniame tarpe yra maža ir didelės įtakos bendrai homeostazei neturi (54, 56). Tačiau, įvykus dideliems homeostazės pakitimams ląstelės viduje, čia kartu padidėja ir HSP koncentracijos, o tokių baltymų kaip HSP 70, HSP 60, HSP 90 ir HSP 27 labai padaugėja ir neląstelinėje aplinkoje. Šie šaperonai, kaip parodė studijos (54, 55, 56, 57), už ląstelės ribų gali būti labai galingi imunostimuliatoriai arba immunosupresoriai. Sąveikaudami su „patrulinuojančių“ imuninių ląstelių (makrofagų, dendritinių ląstelių arba Treg) sienelėse esančiais receptoriais jie sukelia, palaiko arba slopina imuninį atsaką (56). Kas būtent lemia, jog vienais atvejais jie aktyvina, o kitais atvejais slopina imuninį atsaką, nėra iki galo aišku. Tačiau žinoma, kad jų vaidmuo moduluojant imuninį atsaką yra labai didelis (58).

2.1.1.1.2. Laisvieji radikalai

Tai atomai, molekulės ar jonai, turintys vieną arba daugiau nesuporuotų elektronų išorinėje orbitoje. Didžiąją dalį jų sudaro deguonies laisvieji radikalai, tačiau išsiskiria ir kitų laisvųjų radikalų – azoto ir chloro (59). Jie susidaro įvairių organizmo ląstelių vidinės mitochondrijų membranos paviršiuje ir jų gamyba daugiausia vyksta dėl elektronų tėkmės per kvėpavimo grandinės struktūras. Šiuo metu yra žinoma, jog greitesnė elektronų pernaša per grandinę sumažina laisvųjų deguonies radikalų gamybą, nes sutrumpėja elektronų „sulaikymo laikas“ kvėpavimo grandinės kompleksuose, todėl sumažėja pakitusių kvėpavimo grandinės kompleksų koncentracija ir sumažėja tikimybė, kad laisvas elektronas išmuš kitą elektroną iš stabilaus deguonies atomo. Esant audinių pažeidimui, hipoksijai, keičiasi vidinės mitochondrijų membranos potencialas ($\Delta\psi_m$) ir lėtėja elektronų judėjimas kvėpavimo grandine, taip susidaro daug daugiau laisvųjų radikalų (60). Jų poveikį ir ekspresiją reguliuoja antioksidacinės sistemos, kaip antai baltymas Bcl-2. Šio

baltymo kiekio sumažėjimas lemia ląstelės mirtį vykstant apoptozei (61, 62).

Laisvieji radikalai yra homeostazės proceso dalis. Kaip pavyzdys galėtų būti laisvieji radikalai, kurie susidaro fagocituojančiose ląstelėse (makrofaguose, dendritinėse ląstelėse, neutrofiluose ir kt.) (63, 64). Jie padeda fagocitams „nužudyti“ mikroorganizmus ir moduluoti signalinius kelius, reguliuodami redukcijos-oksidacijos procesus, kurie lemia fermentų ir transkripcijos faktorių fosforilinimo ir defosforilinimo procesus (64, 65).

Tačiau esant ląstelių, audinių pažeidimui, ypač hipoksijos ir reperfuzijos sindromui, ląstelėje laisvųjų radikalų susidaro daug daugiau nei fiziologinėmis sąlygomis. Ši būklė yra vadinama oksidaciniu stresu (OS) (66). Radioaktyvūs azoto junginiai, ypač NO, sukelia vazodilataciją bei mažina trombocitų agregaciją (67). Laisvieji radikalai pažeidžia membranas, sukeldami membranos polinesočiųjų rūgščių oksidaciją, vadinamąją lipidų peroksidaciją, taip sudarydami lipidų peroksidus, sukelia ląstelės baltymų polipeptidinių grandinių fragmentaciją ir branduolio DNR pažeidimus, dalyvauja reakcijose su angliavandeniais. Laisvieji radikalai sukelia ląstelės pažeidimą ir mirtį (68, 62). Be tiesioginio poveikio, laisvieji radikalai daro ir netiesioginį poveikį, aktyvina uždegiminį atsaką. Jie skatina lipidinių mediatorių – prostaglandinų, leukotrienų, HST gamybą bei mažina Bcl-2 kiekį (69, 62, 70). Užsitęsęs imuniniam procesui, laisvieji radikalai gaminami didžiuliais kiekiais. Jie pažeidžia imunines ląsteles ir patys gali pereiti ląstelės membraną, tuomet aktyvina dar daugiau imuninių ir netgi neimuninių ląstelių – fibroblastų, endoteliocitų ir epiteliocitų, šie virsta imuninėmis ląstelėmis ir savo ruožtu ima sintetinti IL-1, IL-6 citokinus bei TNF- α ir aktyvinti dar daugiau ląstelių (66, 70, 71).

Uždegimo vietoje suaktyvėjusios uždegiminės ląstelės, be laisvųjų radikalų, dar išskiria ir daug fermentų (neutralių proteazių, elastazės, kolagenazės, rūgščių hidrolazių, fosfatazių, lipazių ir kt.), cheminių tarpininkų (eikozanoidų, komplemento komponentų, citokinų, chemokinų, azoto oksidą ir kt.) ir tokiu būdu sukelia audinių pažeidimus ir didina oksidacinį stresą [72].

2.1.1.1.3. Didelio judrumo grupės dėžutės baltymas 1 (HMGB1)

Vienas iš svarbiausių DAMP atstovų, kuris labai glaudžiai susijęs su atsaku į chirurginę traumą, yra branduolinis ne histono baltymas – didelio judrumo grupės dėžutės baltymas 1 (angl. *high mobility group box protein 1* – HMGB1) (73). Jį galima rasti visose žinduolių branduolių dalyse, kur veikia kaip transkripcijos faktorius (74). HMGB1 koncentracija koreliuoja su traumos sunkumu, be to, įrodyta, kad ji yra daug didesnė išsivysčiusi dauginio organų nepakankamumo sindromui (75). HMGB1 gali aktyviai arba pasyviai patekti į tarpląstelinę erdvę. Pasyviai į tarpląstelinę erdvę jis patenka traumai ar audinių nekrozei pažeidus ląstelės membraną, taip pat vykstant apoptozei (veikia kaip DAMP) (76). Nustatyta, jog HMGB1 inicijuoja uždegiminių reakcijų kaskadą, panašiai kaip ir LPS (lipopolisacharidas, randamas ant išorinės gramneigiamų bakterijų sienelės) stimuliacija (77). Išlaisvintas iš pažeistų ląstelių HMGB1 dalyvauja telkiant makrofagus ir dendritines ląsteles į pažeistus audinius, taip pat prisideda prie NK ląstelių aktyvacijos. Aktyvus patekimo į tarpląstelinę erdvę kelias – HMGB1 sekrecija iš aktyvuotų monocitų, makrofagų ir dendritinių ląstelių (veikia kaip uždegimą skatinantis mediatorius). Ši sekrecija prasideda praėjus 8–12 valandų po stimuliacijos, o tai yra gerokai uždelstas atsakas, palyginti su kitais šių ląstelių išskiriamais uždegimą skatinančiais veiksniais, pavyzdžiui, prouždegiminiais citokiniais (78). Būdamas tarpląstelinėje erdvėje, HMGB1 reguliuoja daugelį procesų – veikia uždegiminių citokinų gamybą, daro įtaką dendritinių ląstelių angiogenezei ir brendimui, veikia kaip chemoatraktantas (79). Dendritinių ląstelių brendimas ir aktyvacija leidžia aktyvuoti ir specifinį imuninį atsaką, daugiausia T limfocitus pagalbininkus.

2.1.1.2. Nespecifinio imuniteto ląstelės, citokinai ir ūmios fazės baltymai

Taigi, kaip DAMP sukelia uždegiminį atsaką? Visi šie faktoriai, lygiai taip pat kaip PAMP – patogeno sukelti molekuliniai modeliai, aktyvuoja nuolat „patrulinuojančias“ nespecifinio imuniteto sistemos ląsteles – makrofagus, dendritines ląsteles ir epiteliocitus per jų sienelėse esančius receptorius (angl. *pattern recognition receptors* – PRR) (80). Jie gali būti paviršiniai (pvz. Toll-like receptoriai (TLR1/2, -4, -5, -6), mCLR_x) bei viduląsteliniai: citoplazminiai (pvz. NLRs, RLRs), endosominiai (pvz. TLR3, TLR7, TLR9), cirkuliuojantys (pvz. CRB, kolektinai, fikolinai) (81). Aktyvavus šiuos receptorius, imuninėse ląstelėse yra suaktyvinamas signalo kelias, dėl to aktyvuojamas branduolio faktorius kappa B (NF-κB) ir atsakingų genų transkripcija, t. y. reikiamos informacijos nurašymas nuo ląstelės DNR,

formuojami transkriptomai ir pradeda uždegiminiam atsakui reikalingų naujų baltymų sintezę (iš jų ir uždegimą skatinančių citokinų) (71, 82). Taigi taip aktyvuojasi makrofagai ir dendritinės ląstelės bei ima judėti link žalingu pripažinto veiksnio. Tuomet jie fagocituoja tą žalingą veiksnį ir fagocituodami išskiria uždegimą skatinančius citokinus (interleukinus IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 ir navikų nekrozės faktorių α (TNF- α) – taip prasideda uždegimas (83).

Pažeidimo vietoje IL-1 ir TNF- α aktyvina kraujagyslių endotelį – taip padidėja jo pralaidumas ir endotelio ląstelių membranose imamos ekspresuoti molekulės, reikalingos leukocitams migruoti iš kraujo į audinius – adhezijos molekulės. Šie citokinai taip pat skatina adhezijos molekulių ekspresiją ir leukocitų membranose (83, 84). Aktyvintų makrofagų išskirtas IL-8 sukelia kryptingą neutrofilų judėjimą pažeidimo link, šis interleukinas yra chemotaksiškas neutrofilams. Pradedami telkti net ir nesubrendę neutrofilai ir monocitai iš kaulų čiulpų (85). Dėl daugybės panašių reakcijų pažeidimo vietoje sustiprėja kraujotaka, kaupiasi skystoji kraujo dalis, komplemento baltymai, imunoglobulinai bei daugybė imuninių ląstelių (makrofagai, monocitai, neutrofilai, dendritinės ląstelės, putliosios ląstelės) (86). Šioje vietoje vyksta aktyvi fagocitozė ir, be abejo, išskiriama labai daug laisvųjų radikalų, kas tik dar labiau skatina uždegimą (66).

Kaip jau minėta, PRR receptorių turi ir ląstelės, kurios ramybės būsenoje yra ne-imuninės, pvz. epitelioцитai. Esant intensyviai imuniniam atsakui, aktyvius jų sienelėse esančius PRR, jose taip pat yra aktyvinami genai, formuojami nauji transkriptomai ir šie taip pat pradeda gaminti ir išskirti citokinus, kurie pritraukia daugiau imuninių ląstelių, taigi šios ne-imuninės ląstelės tampa imuninėmis (87). Tai yra vadinamoji prouždegiminė fazė, jos metu aktyvuotos fagocitinės ląstelės išskiria prouždegiminius citokinus IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 ir TNF- α . Uždegiminio atsako intensyvumas tiesiogiai koreliuoja su pagamintų citokinų kiekiu ir yra skirtas infekciniam ar kitam žalojančiam veiksmui pašalinti, audinių pažeidimui mažinti, negyvų ląstelių likučiams sunaikinti ir gijimo procesui pradėti (88).

Aktyvintos fagocituojančios ląstelės iš pradžių išskiria IL-1, TNF- α , šie skatina kitų citokinų išsiskyrimą, kaip antai IL-6 (73, 80). Šis citokinas (kartu su kitais, tačiau mažesniais dalimis) suaktyvina kepenų ląstelėse ūmios fazės baltymų sintezę: C reaktyviojo baltymo (CRB), prokalcitonino (PCT), manozę sujungiančio baltymo (MSB), o šis tiesiogiai aktyvina komplemento sistemą (80).

2.1.1.2.1. C reaktyvusis baltymas, prokalcitoninas ir ūmios fazės baltymai

CRB pradeda gaminti ir sintetinti hepatocitai praėjus maždaug 6–12 valandų po imuninio atsako iniciacijos ir pasiekia didžiausią koncentraciją (angl. *peak concentration*) po 24–72 valandų. CRB koncentracija plazmoje gali būti padidėjusi net dvi savaites po imuninio atsako sužadavimo pradžios (pvz. didelės apimties operacijos) (89). CRB jungiasi prie patogeno ar kito žalojančio veiksnio membranos fosforilcholino, jį opsonizuoja ir taip makrofagams padeda įsiurbti opsonizuotas daleles, taip pat aktyvina komplementą klasikiniu būdu (89). CRB baltymas vertingas diferencijuojant bakterines ir virusines infekcijas (90, 91). Imuniniam atsakui suintensyvėjus, CRB ima gaminti ir kitos ląstelės: makrofagai, endoteliocitai, limfocitai ir adipocitai (92). Bakterinė infekcija vyksta ląstelės išorėje, kai pažeidžiama dvisluoksnės membranos struktūra ir atidengiama fosfocholino molekulė, kuri jungiasi su CRB (92). Ši sąveika lemia didesnę interleukinų sintezę, o ši, perdavus informaciją kepenų ir kt. ląstelėms, lema tolesnę CRB sintezę (92). Esant daugeliui virusinių infekcijų, minėtas mechanizmas neaktyvuojamas, nes virusinė infekcija – viduląstelinis procesas, todėl CRB koncentracija padidėja mažai (91). Tačiau labai sunku atskirti CRB koncentracijos padidėjimą dėl bakterinės infekcijos ir neinfekcinio komponento (esant aseptiniam uždegimui), nes abiem atvejais jis būna panašus (91).

Prokalcitoninas (PCT) – baltymas, sudarytas iš 116 aminorūgščių. Jis gaminamas skydliaukėje iš CALC-1 geno, esančio 11 chromosomoje. Jos mRNR produktas yra žinomas kaip preprokalcitoninas, kuris vėliau tampa prokalcitoninu. Galiausiai jis suskaidomas į tris skirtingas molekules: aktyvaus kalcitonino (32 aminorūgštys), katalcitonino (21 aminorūgštis) ir N-galinio prokalcitonino (57 aminorūgštys) (93). Kalcitonino hormonas dalyvauja kalcio ir fosforo homeostazėje (94). Praktiškai visi skydliaukės C ląstelėse susiformavę PCT yra paverčiami kalcitoninu, todėl į kraujotaką PCT beveik nepatenka. Taigi sveikų asmenų PCT lygis yra labai žemas (0,05 ng/ml), tačiau PCT išsiskyrimas prasidėjus uždegiminei kaskadai nepriklauso nuo pirmiau nurodytų taisyklių (93). Iš pradžių vykstant uždegiminių atsakui PCT sekrecija yra skatinama dviem būdais: tiesioginiai – indukuojama jo gamyba LPS arba kitu toksiniu mikrobo metabolitu, ir netiesiogiai – jo gamyba suaktyvinama tokių prouždegiminių mediatorių kaip IL-6, TNF- α (93). Būtent dėl šių dviejų atsiradusių kelių PCT koncentracija yra tokia didelė. Norint geriau suprasti prokalcitonino vaidmenį sepsio patofiziologijoje, buvo atliktas eksperimentas su žiurkėmis (95). Sveikiems žiurkėms PCT iRNR pirmiausia buvo rasta skydliaukės ląstelėse, tačiau

žiurkėnų, užkrėstų gramneigiamomis bakterijomis, organizmuose buvo matuojamas PCT iRNR lygis įvairiuose audiniuose ir ląstelėse. Jų organizme PCT galėjo išskirti baltieji kraujo kūneliai, blužnies, inkstų ląstelės, adipocitai, kasos, gaubtinės žarnos ir smegenų ląstelės. Mechanizmas nėra iki galo aiškus (95). PCT lygis greitai padidėja – per 2–6 val., o didžiausią koncentraciją pasiekia per 6–24 val. (93). Todėl darytina prielaida, kad didžiausia koncentracija serume sutampa su ligos sunkumu ir baigtimi (96).

Tyrimuose daugiausia dėmesio buvo skiriama prokalcitonino naudingumui diferencijuojant infekcinę SUAS kilmę nuo neinfekcinės. Dauguma tyrimų (97, 98, 99, 100) patvirtino hipotezę, jog PCT visgi yra labai specifiškas bakterinės kilmės SUAS žymuo, kurio jautrumas ir specifiskumas yra atitinkamai 86,7 % ir 85,3 % (100). Ciriello ir kt., palyginę įvairius biožymenis ligoniams po sunkių traumų, nustatė, kad vienintelis prokalcitoninas yra naudingas prognozuojant, ar ši trauma infekuosis ir ligonis turės ne tik traumos sukeltą SUAS, bet dar ir sepsį (101). Taip pat yra siūloma PCT naudoti kaip gydymo antibiotikais trukmės ir jo keitimo žymenį po didelės apimties operacijų (102). Esant tik aseptiniam uždegimui, PCT būna padidėjęs labai nedaug, todėl plačiai naudojamas SUAS priežasties diferencinei diagnostikai (102).

Be prokalcitonino ir CRP, prouždegiminiai citokinai didina ir kitų ūmios fazės baltymų sintezę: amiloido A serumo, C3 komplemento, haptaglobino, antiproteinazės ir fibrinogeno, kurie nespecifiniame ir specifiniame imunitete dalyvauja kaip uždegimo mediatoriai (103).

Veikiant IL-1 ir IL-6, kaulų čiulpuose yra skatinama neutrofilų gamyba ir išskyrimas į kraujotaką (104). Yra nusistovėjusi nuomonė, jog neutrofilai dalyvauja tik infekcijos sukeltame uždegimo procese, tačiau keletas tyrimų (105, 106) šį mitą paneigė. DAMP ne ką mažiau nei PAMP aktyvina neutrofilus ir šie, lygiai taip pat kaip infekcijos atveju, keliauja į pažeidimo vietą, fagocituoja tai, kas inicijuoja imuninį atsaką, ir daro savo darbą (105, 106).

Klinikiniuose tyrimuose buvo pastebėta, jog padidėjusi uždegimą skatinančių citokinų koncentracija buvo lydima padidėjusios uždegą slopinančių citokinų – IL-4, IL-10, sTNFR1, IL-1 receptorių antagonistų (IL-1Ra), transformuojančio augimo faktoriaus β – koncentracijos (107). Tai ypač būdinga ligoniams po didelės apimties operacijų ar traumų – t. y. aseptinio uždegiminio atsako atvejais. Šis reiškinys laikomas kompensaciniu uždegimą slopinančio atsako sindromu (angl. *compensatory antiinflammatory response*

sindrome – CARS) ir yra būtina sąlyga kontroliuoti uždegiminių mediatorių kaskadą palaikant homeostazę (108), tačiau per didelę jų gamyba yra susijusi su sunkia imunodepresija ir nepalankiomis klinikinėmis baigtimis (109). Išsiskyre uždegimą slopinantys citokinai slopina uždegimą skatinančių citokinų sekreciją, pavyzdžiui, citokinas IL-10 slopina citokinų TNF- α , IL-6, IL-1 gamybą ir sekreciją aktyvuotuose makrofaguose (110).

Kai kurie citokinai, pvz. IL-6, gali ir skatinti, ir slopinti uždegimą (111). Nors IL-6 veikia kaip uždegimą skatinantis citokinas ankstyvuojant uždegimo laikotarpiu, jis gali sukelti ir uždegimą slopinantį poveikį, skatindamas IL-1Ra išsiskyrimą ir taip silpnindamas TNF ir IL-1 aktyvumą (110, 111). Net ir veikdamas kaip uždegimui palankus citokinas (atlikdamas savo pagrindinį vaidmenį), IL-6 tuo pačiu metu skatina makrofagus išskirti prostaglandiną E2 (PGE2) – galingą endogeninį imunosupresantą. PGE2 per ciklinį adenosino monofosfatą (cAMP) slopina TNF- α ir IL-1 sintezę makrofaguose, taip pat stimuliuoja IL-10 išsiskyrimą. Šis prostaglandinas, slopindamas IL-2 gamybą ir IL-2 receptorių ekspresiją, slopina visą T aktyvaciją ir diferenciaciją. Toks gilus uždegimo slopinamasis poveikis sukelia dramatišką citokinų disbalansą, kuris kliniškai vadinamas kompensaciniu uždegimą slopinančio atsako sindromu (CARS). Šiam sindromui būdingas likęs nedidelis uždegimą skatinančių citokinų TNF- α , IL-1, IL-12 lygis, tačiau akivaizdžiai padidėjęs uždegimą slopinančių citokinų IL-6, IL-10 ir IL-1Ra lygis, ir tai sukelia ženklią imunosupresiją (110, 111). Imunosupresiją tokiomis sąlygomis dar labiau padidina deaktyvuoti monocitai, kuriems tokiu atveju yra būdinga smarkiai sumažėjusi HLA-DR antigeno receptoriaus ekspresija, antigeno pateikimo pajėgumo praradimas, taip pat sumažėjęs šių ląstelių gebėjimas gaminti TNF- α (112). Tyrimai (113, 114) parodė, jog kuo ilgesnė operacija, didesnis kraujo netekimas ar sunkesnė trauma, tuo didesni nespecifinio imuniteto homeostazės pakitimai ir tai daro tiesioginę įtaką ryškiems ląstelinio imuniteto pokyčiams – CD4 ir CD8 T limfocitų skaičiaus sumažėjimui (110).

Šioje imunosupresijos fazėje, jeigu pažeidimą sukėlęs veiksnys nėra visiškai eliminuotas (pvz. besitęsianti infekcija, operacija ar reoperacija, hipoksija-reperfuzija, kiti išeminiai įvykiai) DAMP ar PAMP prigaminama labai daug ir jie vėl iš naujo aktyvuoja imuninę sistemą. Tuomet kartu su aktyvinimu vėl prasideda kompensacinis uždegimą slopinantis atsakas ir procesas kartojasi, kol imuninė sistema yra visiškai išbalansuojama. Nėra iki galo žinoma, kada tiksliai prasideda ši uždegimą slopinančio atsako fazė ar kaip numatyti, kokio stiprumo imunosupresiją ji sukels. Šiuo metu daugiausia duomenų yra už tai, kad ji prasideda kartu su ankstyvuojančiu sužadinimu ir kad tai normaliomis

sąlygomis yra reikalingas savireguliacijos mechanizmas. Tačiau problema atsiranda tuomet, kai uždegimą skatinančių citokinų yra išskiriama labai daug arba žalojančio veiksnio sukeltas pažeidimas trunka ilgai (115, 110).

Tyrinėdamas sepsio patogenezę, R. Bones labai gražiai aprašė penkias SUAS vystymosi iki dauginio organų nepakankamumo stadijas:

Pirmasis etapas yra vietinė reakcija sužalojimo vietoje, kurios tikslas – eliminuoti žalojančią veiksnį ir apriboti plitimą. Imuninės efektorinės ląstelės toje vietoje išskiria citokinus, kurie savo ruožtu stimuliuoja retikuloendotelinę sistemą, skatindami žaizdos gijimą per vietinį uždegimą. Azoto oksidas ir prostaciklinas sukelia lokalų kraujagyslių išsiplėtimą (lot. *rubor*), padidėja kraujagyslių pralaidumas, leidžiantis leukocitams telktis prie kraujagyslių sienelių ir pernešti leukocitus į audinius. Ląstelių ir daug baltymų turinčio skysčio kaupimasis ekstravaskulinėje erdvėje sukelia patinimą (lot. *tumor*) ir temperatūros pakilimą (lot. *color*). Uždegiminiai mediatoriai veikia vietinius somatosensorinius nervus, sukelia skausmą (lot. *dolor*) ir funkcijos praradimą (lot. *functio laesa*). Tas funkcijos praradimas yra teigiamas dalykas šioje reakcijoje, nes leidžia kūno daliai ar audiniui atsistatyti, o ne nuolat būti įdarbintam.

Antrasis etapas yra ankstyvasis kompensacinis uždegimą slopinančio atsako sindromas (CARS), siekiant išlaikyti imunologinę pusiausvyrą. Vyrauja uždegimą slopinančių citokinų išsiskyrimas, pradedami stimuliuoti augimo faktoriai ir įdarbinami makrofagai bei trombocitai – tam, kad likviduotų padarinius.

Trečiasis etapas yra tada, kai skalė pereina vėl į uždegimą skatinantį SUAS, dėl kurio progresuoja endotelio disfunkcija, koagulopatija ir suaktyvėja krešėjimo sistema. Šis etapas kyla dėl to, kad patogenas ar kitas žalojantis veiksnys nebuvo sunaikintas ar pašalintas ir prieš tai buvusi imunosupresinė fazė leido jam toliau žalingai veikti, taigi jis iš naujo inicijuoja imuninę kaskadą. Tai lemia organo mikrotrombozę ir laipsnišką kapiliarų pralaidumo didėjimą, galiausiai prarandamas kraujotakos vientisumas.

Ketvirtajam etapui būdinga tai, kad ima vyrauti kompensacinis uždegimą slopinančio atsako sindromas ir tai lemia santykinės imunosupresijos būseną. Todėl asmuo tampa jautrus antrinėms ar hospitalinėms infekcijoms, taip pratęsiama sepsio kaskada.

Penktasis etapas pasireiškia dauginiu organų nepakankamumu esant nuolatiniam tiek SUAS, tiek uždegimą slopinančio atsako sindromo reguliavimui (116).

Yra žinoma, jog kai kurie citokinai antiuždegimiškai veikia makrofagus ir monocitus, tačiau veikdami kitas ląsteles aktyvina imuninį atsaką ir atvirkščiai (111). Štai keletas pavyzdžių: IL-10 buvo identifikuotas ir apibrėžtas kaip citokinas, sugebantis slopinti IFN γ gamybą Th1 ląstelėse (117), tačiau visai neseniai buvo įrodyta, kad IL-10 sustiprina IFN γ gamybą NK ląstelėse (118), be to, IL-4 ir IL-10, kurie slopina LPS sukeltą IL-8 gamybą makrofaguose, sustiprina jo gamybą endotelio ląstelėse (119). Taip pat kai kurių citokinių poveikis yra nuo koncentracijos priklausomas: klinikiniame reumatoidiniu artritu sergančių ligonių tyrime buvo pastebėta, jog nedideli IL-12 kiekiai skatino uždegimą, o ženkliai padidėjusi šio interleukino koncentracija buvo susijusi su imunitetą slopinančiu poveikiu (120). Taigi, citokinių kiekis, dominuojančių citokinių poveikis gali būti labai skirtingas kiekvienu atveju ir labiausiai priklauso nuo tos mikroaplinkos, kurioje jis prasideda ir vyksta (111). Šiuo metu vyksta daug klinikinių tyrimų, kuriais siekiama tai išsiaiškinti kuo nuodugniau, kad galėtume kontroliuoti ir prognozuoti šiuos procesus.

Apibendrinant, ko gero, galima teigti, jog citokinai – tai ląstelių bendravimo priemonė: jais ląstelės aktyvinasi, kviečia į pagalbą kitas (kviečia aktyvintis), jas aktyvina arba įspėja, kad jau pavargo, ir kviečia trumpam sustoti ir pailsėti, tačiau pailsėjusios ir supratusios, kad jų darbas dar nebaigtas, jos vėl atnaujina kvietimą.

2.1.1.3. Audinių suderinamumo kompleksas (MHC) ir antigeną pateikiančios ląstelės (APL)

Fagocitozė ir citokinių sintezė nėra vienintelės nespecifinio imuniteto ląstelių funkcijos uždegiminiame atsake. Suradę ir endocitavę žalojančią veiksnį, makrofagai ir dendritinės ląstelės apdoroja žalingo veiksnio molekules (baltymus, glikolipidus) ir likusius fragmentus inkorporuoja į didelio audinių suderinamumo (angl. MHC – *major histocompatibility complex*) baltymų kompleksą, ir jie kartu keliauja į ląstelės paviršių, kur žalojančio veiksnio fragmentai (epitopai) komplekse su MHC-I ir MHC-II klasės molekulėmis yra pateikiami T limfocitų receptoriui (121). Šiame etape jos vadinamos profesionaliomis antigeną pateikiančiomis ląstelėmis (APL) (73). Lygia greta jos didina MHC-I, MHC-II ir kitų kostimuliacinių molekulių, kurios būtinos T limfocitams aktyvintis, raišką savo paviršiuje ir čia geba ekspresuoti

chemokinių receptorių, kurių padedamos jos gali judėti iš antigeno atpažinimo vietos į antrinius limfinius organus, kur vyksta antigeno pateikimas T limfocitams ir jų aktyvinimas. Taip pat APL sugeba netgi išskirti įvairius citokinus ir ekspresuoti paviršiaus molekules, lemiančias imuninio atsako pobūdį (Th1, Th2, Th17). Išskiriamų citokinių ir poliarizuojančių paviršiaus molekulių raiškos profilis priklauso nuo žalingo veiksnio prigimties (virusas, bakterija, vėžio ląstelė – skirtingi PAMP ir DAMP), dozės, aktyvinimo signalų poveikio trukmės bei jų eiliškumo. Taip pat APL geba išskirti įvairias medžiagas, lemiančias susidariusių efektorinių T limfocitų migracines (angl. *homing*) savybes. Taip jos aktyvina specifinį imuninį atsaką, pradedant nuo ląstelinio (122, 123).

Žmogaus pagrindinis audinių suderinamumo kompleksas (MHC) yra išsidėstęs 6 chromosomos trumpajame petyje p21.3 dalyje ir užima apie 4 DNR megabazes (123). MHC komplekso atradimo pradžia siejama su praeito šimtmečio penktajame dešimtmetyje prasidėjusia eksperimentine transplantacija (124, 125). Pelių pagrindinis audinių suderinamumo kompleksas buvo pavadintas H2 kompleksu, o žmogaus – HLA (angl. *human leukocyte antigens*) (126, 127). Šiuo metu santrumpos MHC ir HLA yra vartojamos kaip sinonimai žmogaus pagrindinio audinių suderinamumo kompleksui žymėti (123). Buvo nustatyta, jog antigenui specifiniai T limfocitai nesugeba atpažinti laisvo baltyminio antigeno, tačiau atpažįsta antigeno peptidus, susijungusius su MHC molekulėmis (128). Paaiškėjo, jog MHC genų koduojami produktai yra atsakingi už antigeninių peptidų generaciją, pernašą ir pateikimą ląstelės paviršiuje. MHC molekulės nėra sekretuojamos iš ląstelės, jos su ląstele susijusios. Todėl T limfocitai savo receptoriais atpažįsta svetimus antigenus tik tada, kai jie yra prisijungę prie kitų ląstelių paviršiaus MHC molekulių (MHC molekulių pateikti) (128). MHC labai apytikriai yra skirstomi į MHC-I ir MHC-II molekulių kompleksus. MHC-I molekulės ekspresuojamos visose organizmo ląstelėse, turinčiose branduolį (aišku, ne visose ląstelėse jų raiška yra vienodai intensyvi), o MHC-II klasės molekulės ekspresuoja APL (makrofagai, dendritinės ląstelės, aktyvinti T limfocitai, užkrūčio liaukos epitelio ląstelės, kraujagyslių endotelio ląstelės, B limfocitai). Pagrindinė ir klasikinė MHC komplekso funkcija – prisijungti antigeno peptidus, sudaryti su jais kompleksą ir pateikti T limfocitų receptoriams (TCR) ir taip inicijuoti specifinį imunitetą (129).

2.1.2. Specifinis (adaptacinis) imuninis atsakas

Adaptacinę imuninę sistemą sudaro du pagrindiniai ląstelių tipai: B ir T limfocitai. Priešingai nei nespecifinio imuninio atsako ląstelės, kurios savo paviršiuje turi PRR receptorius, kurie nuolatos „tyko“ ir sugeba atpažinti įprastus antigenų modelius, specifinio imuniteto ląstelės ekspresuoja specifinius antigeną nustatančius receptorius ant ląstelės paviršiaus (45): T ląstelių – TCR (130), o B ląstelių – BCR (131). Glaudus nespecifinės ir specifinės imuninės sistemos tarpusavio ryšys reiškia, jog kai pavojaus signalai, atsirandantys dėl patogeno (PAMP) ar audinių pažeidimo (DAMP) traumos metu (dėl operacijos, traumos, nudegimai) suaktyvina įgimtą imuninę sistemą, ši sistema lemia ir didelius specifinio imuniteto sistemos pokyčius (132).

2.1.2.1. T limfocitų sukeltas imuninis atsakas

Kaip jau minėta, antigenai yra apdorojami nespecifinio imuniteto ląstelių, tuomet pateikiami kartu su MHC kompleksu APL ląstelės paviršiuje, kur juos galėtų atpažinti T limfocitas savo TCR receptoriumi. Suaktyvintus TCR receptorių, kartu veikiant signalizacijos keliams, kuriuos sukėlė citokinai, kostimuliacinės molekulės, chemokinai, integrinai ir metabolitai, aktyvinasi ramybėje esančios T ląstelės ir vyksta aktyvintų T ląstelių diferenciacija į specifines T ląsteles – potipius, kurie turi skirtingas specializuotas funkcijas (132, 129). Efektorinės T ląstelės kovos prieš antigenus jau šios atakos metu, taip pat dalis jų virsta atminties T ląstelėmis (angl. *T memory cells*), kurios saugos organizmą nuo tokių pačių atakų ateityje (129). CD4⁺ T ląstelės pagalbininkės (angl. *helper*) diferencijuojasi į specializuotus efektorinių ląstelių potipius: pirmo tipo T pagalbininkus (Th1) ir atitinkamai Th2, Th17, folikulinius T pagalbininkus ir reguliacinius T pagalbininkus (Treg) (133). CD8⁺ T ląstelės diferencijuojasi į efektorines ir atminties. Šie potipiai užtikrina imuninį atsaką į skirtingus patogenus bei žalojančius veiksnius. Padedama šių specializuotų T ląstelių potipių, imuninė sistema reguliuoja ir pati save, kad apsaugotų nuo nereikalingos hiperaktyvacijos (133).

Tai labai griežtai reguliuojama ir labai disciplinuota sistema. T limfocitai sureaguoja tik į tą antigeną, kuris yra pateikiamas nuosavų MHC molekulių – tai nuosavų MHC apribotas (angl. *self-MHC-restricted*) atpažinimas (128). Tam, kad tokiu būdu galėtų atpažinti antigenus, T limfocitas savo membranoje turi ekspresuoti TCR ir CD3 – jais jis atpažįsta antigeną ir

perduoda aktyvinimo signalą, taip pat CD4 arba CD8, kuriais sąveikauja su MHC-I (CD8) ir MHC-II (CD4) pastoviaisiais domenais (133).

Šias molekules T limfocitas įgyja bręsdamas užkrūčio liaukoje (lot. *thymus*) (134). Yra duomenų, jog T limfocitai gali bręsti ir už šios liaukos ribų (tonzilėse (135), limfmazgiuose), nes net ir ją pašalinus T limfocitų brendimas tebevyksta (136). Brendimo metu suformuojama įvairiems antigenams specifiskų T limfocitų visuma (134). Užkrūčio liaukoje vyksta ne tik brandinimas, bet ir griežta daugiapakopė T limfocitų selekcija (134, 137), todėl į periferiją patenka tik nuosavų MHC apriboti ir nuosaviems antigenams tolerantiški T limfocitai, kurių visų TCR afiniškumas antigenui turi būti vienodas (134). Tai būtina tam, kad T limfocitai atpažintų antigeną, tačiau kartu ir apsisaugotų nuo nukreipto į nuosavus organizmo audinius imuninio atsako. Užkrūčio liaukoje T limfocitas bręsta neveikiamas svetimo antigeno (antigeno nepriklausoma T ląstelių vystymosi stadija), todėl, palikę liauką, jie vadinami naiviaisiais T limfocitais (Th0) – tai yra neturėjusiais kontakto su antigenu. Th0 „patruliuoja“ limfiniuose organuose. Čia juos aktyvina antigenai, tuomet jie proliferuoja ir diferencijuojasi į efektorines ląsteles, kurios, palikusios diferenciacijos vietą, kaupiasi antigeno lokalizacijos vietoje, įvairiais mechanizmais stengdamosi jį eliminuoti (134).

2.1.2.1.1. T ląstelių aktyvacija ir diferenciacija

Pradinis naiviųjų ląstelių (Th0) proliferacijos ir diferenciacijos etapas yra antigeninė stimuliacija, atsirandanti dėl TCR, CD3+ ir CD4+ arba CD8+ (kaip koreceptorius) sąveikos su antigeno-MHC II kompleksu, kuri pateikia antigeną pristatančios ląstelės (APL). TCR kartu su CD3+ aktyvavimu indukuoja signalizacijos kelių tinklą, kuris galiausiai sukelia naiviųjų ląstelių dauginimąsi ir diferenciaciją į specifines efektorines ląsteles (130). Konkrečios linijos diferenciacija priklauso nuo to, kokie citokinai vyrauja mikroaplinkoje, taip pat nuo antigenų koncentracijos, APL tipo ir kostimuliacinių molekulių (138, 139). APL turi sugebėti sintetinti ir ekspresuoti ne tik MHC-I, bet ir MHC-II molekules, lygiai kaip ir kostimuliacines molekules B7:B7.1 (CD80) ir (ar) B7.2 (CD86) (140). Iš APL dendritinės ląstelės laikomos svarbiausiomis dėl stipresnio jų gebėjimo stimuliuoti naiviausias T ląsteles (141). APL aktyvuojamos atpažįstant antigeną ląstelių paviršiaus receptoriais (angl. *pattern recognition receptors* – PRR), pavyzdžiui, paviršiniaisiais Toll-like ir viduląsteliniais – į nukleotidų oligomerizacijos domeną (NOD) panašiais receptoriais (142). Kostimuliaciniai signalai padidina TCR signalus, taip skatindami proliferaciją

ir diferenciaciją. Pagrindinis stimulatorius T ląstelių membranose yra CD28, su kuriuo ir reaguoja B7.1 (CD80) ir (ar) B7.2 (CD86), esantys APL (pvz. dendritinės ląstelės). Kitos mažiau stiprios stimuliacinės molekulės T limfocituose yra CD28 homologo indukuojamas kostimulatorius (ICOS), TNF receptorių šeimos nariai (CD27, 4-1BB ir OX-40) (143, 144).

Pradinis citokinų šaltinis yra APL ir kitos nespecifinio imuniteto ląstelės. Vėliau aktyvavęsi ir diferencijavęsi T limfocitai patys gali gaminti ir ekspresuoti citokinus, taip patys reguliuodami imuninį atsaką (130). Naiviųjų T limfocitų aktyvinimas vyksta dviem etapais, t. y. dviem aktyvinimo signalais:

- signalas: TCR receptorius atpažįsta peptidus APL ląstelės paviršiuje: TCR reaguoja su peptido, t. y. MHC molekulės, atnešusios antigeną, kompleksu (CD8 su MHC-I, o CD4 su MHC-II);
- signalas: T limfocitų membranose esančių CD28 sąveika su B7 (CD80) molekulėmis APL ląstelių membranose (140).

Po antrojo aktyvinimo signalo T limfocitai ima sintetinti citokinus, pvz. IL-2 ir IL-2R. Citokinai, veikdami autokriniškai (t. y. jį pagaminusias ląsteles), sukelia naiviųjų limfocitų proliferaciją. Taip susiformuoja specifinių tam antigenų T limfocitų klonai (145).

Klasikinis ankstyvasis limfocitų aktyvacijos žymuo yra CD69. Tai yra su membrana susijęs II tipo C lektino receptorius. CD69 ekspresuoja beveik visi audiniuose reziduojančių imuninių ląstelių pogrupiai, įskaitant limfmazgiuose esančius T limfocitus ir rezidentines atminties T (TRM) ląsteles (146). Tyrimai parodė, kad CD69 reguliuoja kai kurias specifines pasirinktų T limfocitų pogrupių funkcijas, nustatydamas, kiek T limfocitų turėtų migruoti, o kiek pasilikti limfmazgyje, taip pat ir efektorių fenotipinę diferenciaciją (147). CD69 ekspresija greitai indukuojama T limfocitų paviršiuje po TCR ir CD3 sąveikos. CD69 geno transkripcija nustatoma anksti po suaktyvinimo (30–60 min) ir CD69 baltymo ekspresija gali būti nustatyta praėjus 2–3 valandoms po stimuliacijos; tačiau po 4–6 val. jis greitai mažėja (146). CD69 pasirodymas aktyvuotų ląstelių plazmos membranoje yra greitesnis nei CD25, todėl jis plačiai naudojamas kaip labai ankstyvas limfocitų aktyvacijos žymuo (148). Taip pat yra manoma, jog CD69 turi didelę įtaką efektorinių T ląstelių diferenciacijai. Žinoma, kad T ląstelių diferenciaciją daugiausia lemia citokinai, kurie aktyvina JAK ir STAT kelius, o tai lemia giminei specifinių transkripcijos faktorių ir efektorinių ląstelių citokinų ekspresiją bei išskyrimą. Yra manoma, jog kartu su citokinais CD69 lemia TH1, TH2 ląstelių

diferenciaciją (146). Kita vertus, TGF- β stimuliacija esant IL-6 arba IL-21 (kurie signalizuoja per STAT3) skatina TH17 ląstelių vystymąsi (149). Citoplazminė CD69 uodega per JAK3 suaktyvina tarpląstelinius signalus, kurie paskui fosforilina ir aktyvina STAT5 (1 pav.) (150). STAT5 ir STAT3 signalų pusiausvyra yra pagrindinis indukuojamų Treg ląstelių vystymosi laidininkas. Iš esmės galima teigti, jog ir Th17 ir Treg reguliavimui didelę įtaką daro CD69 (146). Tikslios jo funkcijos ir įtaka T ląstelių diferenciacijai vis dar tyrinėjamos, tačiau visos aktyvintos T ląstelės jį ekspresuoja, taigi šiuo metu jis naudojamas kaip ankstyvas T ląstelių aktyvacijos žymuo (146).

2.1.2.1.1.1. CD4+ T limfocitų aktyvacija ir diferenciacija

Kaip jau minėta CD4+ T limfocitai diferencijuojasi į skirtingus potipius: pirmo tipo T pagalbininkus (Th1) ir atitinkamai Th2, Th17, folikulinius T pagalbininkus ir reguliacinius T pagalbininkus (Treg). Remiantis tuo, kas yra žinoma, svarbiausią vaidmenį diferencijuojantis efektorinėms ląstelėms atlieka citokinai (146). Ląstelinis imunitetas naudoja šiuos nespecifinio imuniteto elementus imuniniam atsakui reguliuoti (151).

Th1. Interleukinas 12 (IL-12) ir interferonas γ (IFN γ) yra pagrindiniai citokinai, inicijuojantys signalų kaskadą, lemiančią Th1 ląstelių diferenciaciją (152). Antigeną pateikiančios ląstelės (APL) išskiria IL-12 dideliais kiekiais po aktyvavimo, o IL-12 savo ruožtu skatina natūraliųjų kiliarių (NK) ląsteles gaminti IFN γ (153, 154, 155). Pagrindinis Th1 diferenciacijos reguliatorius – T-box transkripcijos faktorius (T-bet), kuris ne tik lemia ląstelės diferenciaciją į konkretų fenotipą, tačiau ir slopina konkurencinių ląstelių (Th2 ir Th17) vystymąsi (156, 157). Jį aktyvina IFN γ , T-bet savo ruožtu taip pat labai padidina IFN γ gamybą ir sekreciją įvairiais keliais (146). Tyrimai parodė, jog T-bet veikdamas per Bcl-6 gali ir labai sumažinti IFN γ sekreciją, tuo apsaugodamas nuo hiperstimuliacijos (158). Pagrindinė Th1 efektorių ląstelė taikiny yra makrofagai: veikiant IFN γ ir tiesiogiai Th1 efektorius TCR sureagavus su makrofago MHC-II kompleksu, didėja jų baktericidinis aktyvumas, o sintetindami MHC-I ir MHC-II tampa efektyvesnėmis APL. Taip pat skatinama monocitų diferenciacija kaulų čiulpuose. Th1 išskiriami citokinai sutelkia makrofagus infekcijos židinyje, skatina jų ekstravazaciją bei lemia kryptingą judėjimą. Aktyvuodami Fas molekules makrofagų membranoje, gali sunaikinti labai pažeistus makrofagus, jau nesugebančius pašalinti antigeno. Th1 taip pat išskiria IL-2 ir tuo skatina T limfocitų proliferaciją, taip pat aktyvina CD8 ir skatina jų vartimą citotoksiniams. Aktyvinamos NK ląstelės ir tuo padidinamas jų citolizinis aktyvumas, taip pat

aktyvinami neutrofilai. IL-2 kartu su IFN γ aktyvina B limfocitus – skatina opsonuojančių antikūnų sintezę (146).

Th2. Efektorinių 2 tipo T limfocitų diferenciaciją daugiausia lemia IL-4. Veikiami IL-4, Th0 limfocitai aktyvinami į Th2 ir slopinama Th1 diferenciacija. Diferenciaciją į Th2 taip pat lemia ir IL-2, ir IL-6. IL-6 padidina IL-4 gamybą naivių CD4 ląstelėse tuomet diferenciacija vyksta taip, kaip aprašyta pirmiau. Th2 diferenciacijos produktas yra nepriklausomas augimo faktorius 1 (Gfi-1) (146). Th2 ląstelės sukuria imuninį atsaką į tarpląstelinius parazitus, įskaitant helmintus, ir atlieka svarbų vaidmenį indukuojant ir palaikant astmą bei kitas alergines ligas (159, 160). Pagrindiniai efektoriniai citokinai apima IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-10, IL-25 ir amfiregulina. IL-4 yra pagrindinis citokinas, susijęs su alerginiu uždegimu. Jis įtakoja IgE gamybą, kuris lemia histamino ir serotonino atspalaidavimą (161). IL-4 taip pat skatina kelių kitų uždegimą skatinančių mediatorių, įskaitant IL-6, GM-CSF (granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantis faktorius), VCAM-I sukibimo molekulės, padidėjimą (162). IL-5 skatina eozinofilų augimą (163). IL-9 aktyviai dalyvauja astmos imunopatogenezeje (164). Vienas iš pagrindinių IL-13 vaidmenų yra kova su virškinamojo trakto helmintais (165). IL-10 yra uždegimą slopinantis citokinas. Po patogeno pašalinimo imuninio atsako metu IL-10 padeda pasiekti homeostazę slopindamas Th1 ląsteles, taip pat kitas nespecifinio imuninio atsako ląsteles (166). IL-25, anksčiau žinomas kaip IL-17E, yra IL-17 citokinų šeimos narys. IL-25 vaidmuo yra slopinti Th17 sukeltą imuninį atsaką, taigi jis yra svarbus autoimuninių procesų slopinime. si (167). Amfiregulinas yra epidermio augimo faktoriaus (EGF) šeimos narys. Jis tiesiogiai sukelia epitelio ląstelių proliferaciją (146).

Th17. IL-6, IL21, IL-23 ir TGF- β yra pagrindiniai signalizuojantys citokinai, dalyvaujantys Th17 ląstelių diferenciacijoje, o ROR- γ t yra pagrindinis reguliatorius. Diferenciacijos procesą galima suskirstyti į tris etapus, įskaitant diferenciacijos stadiją, tarpininkaujančią TGF- β ir IL-6, savęs amplifikacijos etapą – IL-21 ir stabilizacijos etapą – IL-23 (146). TGF- β yra pagrindinis citokinas, lemiantis Th17 diferenciaciją (168). Tačiau TGF- β taip pat atlieka svarbų vaidmenį T ląstelėms diferencijuojantis į reguliacinius T limfocitus (iTreg). Th17 ir iTreg yra antagonistiskai susiję. TGF- β , esant didelei Th17 koncentracijai, gali nukreipti T ląstelių diferenciaciją link iTreg vystymosi (169, 170). Tačiau esant mažai Th17 koncentracijai ir esant IL6, TGF- β sukelia Th17 diferenciaciją, IL21 gamybą ir padidina IL-23R ekspresiją (170). Th17 yra atsakingas už imuninio atsako prieš tarpląstelines bakterijas ir

grybelius sukėlimą. Th17 taip pat dalyvauja vystantis autoimuninėms ligoms (171). Pagrindiniai efektoriniai citokinai yra IL-17A, IL-17F, IL-21 ir IL-22. IL-17A ir IL-17F signalizacija vyksta per bendrą receptorių IL-17RA (172). Kadangi šis receptorių yra ekspresuojamas keliuose audiniuose (kraujodaros audiniai, oda, plaučiai, žarnynas ir sąnariai), IL-17 poveikis yra platesnis nei T ląstelių sukeltas uždegiminis atsakas. IL-17 skatina uždegimui palankių citokinių, įskaitant IL-6, IL-1, TNF- α , ir uždegimui palankių chemokinių, užtikrinančių uždegiminių ląstelių chemotaksį į uždegimo vietas, gamybą (174, 175). IL-21 pasižymi pleiotropinėmis funkcijomis, sukelia T ląstelių aktyvaciją, indukuoja B ląsteles diferencijuotis į plazmocitus ir atminties ląsteles ir aktyvina NK ląsteles (175). Įrodyta, kad sergant ūmine kepenų liga IL-22 dalyvauja ribojant kepenų audinio pažeidimą (176).

Reguliaciniai CD4 T limfocitai (Treg). Yra dvi rūšys šių T ląstelių: iTreg ir nTreg. iTreg ląstelės – tai FOXP3+ CD4+ CD25+ ląstelės, kurios išsivysto periferiniuose limfoidiniuose organuose po antigeninio suaktyvinimo, o nTreg yra iš užkrūčio liaukos išsiskyrusios ląstelės su išreikštu FOXP3 (177). TGF- β yra kritinis citokinas, atsakingas už iTreg ląstelių giminės „išipareigojimo aktyvintį“ inicijavimą (178). FOXP3 yra išreikštas CD4+ CD25+ Treg ląstelėse ir yra pagrindinis transkripcijos veiksnys, susijęs su iTreg diferenciacija (179). Treg neigiamai reguliuoja imuninį atsaką, taip apsaugodami nuo imunopatologijos (180). Jų pagrindiniai efektoriniai citokinai yra IL-10, TGF- β ir IL-35. IL-10 yra stiprus slopinantis citokinas, turintis galimybę slopinti uždegimą skatinantį imuninį atsaką ir taip apsaugoti audinius nuo imuninės sistemos sukeliama pažeidimo (181, 182). IL-10 ir TGF- β stipriai slopina IgE gamybą, taigi jie atlieka svarbų vaidmenį silpninant alerginį uždegimą (183). Tyrimai su pelėmis, kurioms buvo ištrintas T ląstelėms specifinis genas, kuriame užkoduota TGF- β sintezė, parodė, jog, nesant TGF- β sintezės, yra sukeliama nepaprasta imunopatologija dėl nekontroliuojamos uždegimą skatinančių T ląstelių diferenciacijos (184).

Tai yra didžiausią įtaką sisteminiam uždegimui turintys CD4+ T limfocitų efektorinių ląstelių potipiai.

2.1.2.1.1.2. Aktyvuoti CD8+ T limfocitai

Naivieji CD8 T limfocitai diferencijuojasi į efektorines ląsteles, kurios vadinamos citotoksinais T limfocitais – CTL (185). Kaip jau minėta, naivieji CD8+, taip pat kaip ir CD4+, T limfocitai yra aktyvinami dviem aktyvinimo signalais (140). Taip pat CD8+ T ląstelių proliferacijai reikalingi interleukinai: IL-2 ir IL-2R, kuriuos gamina aktyvinti CD4+ T limfocitai.

Manoma, jog CD8 T limfocitų diferenciacijai į CTL turi įtakos $IFN\gamma$, taip pat APL išskiriamas IL-12 (186). Atminties CD8+ T limfocitai taip pat gali diferencijuotis į CTL. Šiuo atveju nereikalinga CD28-B7 sąveika, užtenka ir autokriniio IL-2 poveikio (185).

T limfocitų, virtusių CTL, funkcija imuniniame atsake yra ląstelės taikinio lizė. Toks jų veikimo principas. Taigi, kaip tai vyksta? CTL prisijungia prie ląstelės taikinio per TCR ir adhezijos molekules. Tuomet CTL ląstelė yra aktyvinama ir pradeda gaminti citotoksinus. Susidarius CTL ir ląstelės taikinio porai, gausiai citotoksinų turinčios granulės sustitelkia kažkuriame viename CTL poliuje ir citotoksinai išskiriami ląstelių kontakto vietoje. Citotoksinai – tai CTL granulėse esantis baltymas perforinas ir trys serino proteazės, vadinamos granzimais. Perforinas įsiterpia į ląstelės taikinio membraną, taip suformuodamas joje kanalus ir dėl to ląstelėje taikinyje gali įvykti osmosinė lizė. Taip pat per šiuos kanalus į ląstelės vidų patenka granzimai, kurie, aktyvindami endogeninę ląstelės apoptozę, sukelia DNR fragmentaciją. Išskyrusi į ląstelę taikinį citotoksinus, nepakitusi CTL nuo jos atsiskiria. Tuomet CTL gali jungtis prie kitos ląstelės taikinio, kurią numatyta lizuoti (187, 188, 189).

CTL, be tiesioginės savo funkcijos lizuojant ląsteles taikinius, taip pat išskiria citokinus $IFN\gamma$, $TNF-\beta$ ir $TNF-\alpha$. $IFN-\gamma$ slopina virusų replikaciją, didina MHC-I molekulių ekspresiją infekuotų ląstelių membranose, taip gerindami CTL ataką (189). Šis citokinas taip pat aktyvina ir makrofagus, telkia juos infekcijos vietoje, kur makrofagai gali būti ir pagalbininkai, ir ląstelės taikiniai, ir APL. $TNF-\beta$ ir $TNF-\alpha$ veikia sinergiškai. Kai $IFN-\gamma$ aktyvina makrofagus, $TNF-\beta$ ir $TNF-\alpha$ didina adhezijos molekulių ekspresiją endotelio membranose, o tai labai padeda efektorinėms ląstelėms susitelkti infekcijos vietoje (190). Taigi pagrindinė CTL funkcija yra lizuoti denatūruotas, labai pakitusias, savo funkcijos neatliekančias bei labai infekuotas ląsteles, taip pat ir vėžines. Natūralu, jog CTL dalyvauja ir ūminio transplantato atmetimo reakcijose (185).

2.1.2.1.2. Atminties T limfocitai

Po pirminio imuninio atsako T limfocitų skaičius organizme labai padidėja. Dalis efektorinių ląstelių virsta atminties T ląstelėmis, kurios jau turi informacijos apie antigeną ir, pasikartojus jo invazijai, galės būti aktyvinamos antigeno ir MHC kompleksui suaktyvinus jų TCR receptorių (tam nereikės antrojo signalo) (191).

Atminties T ląstelių populiacija susidaro iš centrinės atminties T ląstelių (TCM), kurios reziduoja limfmazgiuose ir baltojoje blužnies pulpoje, ir efektorinių atminties T ląstelių (TEM), kurios plačiai migruoja tarp nelimfoidinių audinių, kraujo ir blužnies. Taip pat neseniai buvo atrasta nauja atminties ląstelių populiacija – audiniuose reziduojančios atminties T ląstelės (TRM). Tai atminties T ląstelės, nuolatos esančios audiniuose (įskaitant ir pagrindines barjerines vietas – odą, plaučius, žarnyną). Šios ląstelės yra nuolat patuliuojančios audiniuose, jos niekur nekeliauja, nesikeičia informacija su cirkuliuojančiu baseinu. Šio tipo ląstelės neturi gebėjimo „mobilizuotis į didžiąją kariuomenę“ ir keliauti per organizmą, tačiau jos turi kitą unikalų gebėjimą nuolatos stebėti situaciją savo regione ir reaguoti „čia pat“, atsiradus patogeniui ar audinių pažeidimui (192, 193).

Centrinės atminties T ląstelės (TCM) labai primena naivuosius T limfocitus – būdamos limfmazgiuose ir baltojoje blužnies pulpoje ir pažinusios „savo antigeną“, jos gali greitai profileruoti, diferencijuotis ir migruoti link pažeidimo vietos. Efektorinės atminties T ląstelės (TEM), kaip ir stimuliuotos efektorinės T ląstelės, kurios ir buvo atminties ląstelių pirmtakės, yra išlaikiusios gebėjimą atpažinti tą antigeną, kuris tuo metu sukėlė jų proliferaciją ir diferenciaciją, jos lieka pasirengusios greitai reaguoti į to antigeno pakartotinį pasirodymą ir vykdyti savo pirmtakių efektorinių ląstelių funkcijas – uždegiminio atsako reguliavimą (CD4+ atminties ląstelės) ar užsikrėtusių ir negrįžtamai pakitusių šeimininko ląstelių citolizę (CD8+ atminties ląstelės) (192). Atminties ląstelių aktyvinimą bei diferenciaciją lemia ir citokinai: I tipo interferonas (IFN), interleukinas-33 (IL-33), naviko nekrozės faktorius α (TNF- α) ir kt. (194, 195). Jie padidina CD69 ekspresiją T ląstelių paviršiuje, o CD69 toliau lemia jų diferenciaciją bei paleidimą į kraujotaką (196). Taigi iš esmės CD69 yra labai universalus ir greitas T ląstelių aktyvinimosi ir diferenciacijos žymuo.

Pagrindinis klausimas – kiek ilgai išlieka šios atminties T ląstelės? Į šį klausimą taip ir lieka neatsakyta. Atliekant tyrimus su pelėmis (197, 198) buvo nustatyta, jog TRM išbuvo iki pusės jų gyvenimo trukmės. Tačiau remiantis tyrimais su žmonėmis galima teigti, jog dar nėra nustatyta kokių nors aiškių modelių, pagal kuriuos būtų galima prognozuoti, kurį laiką tarpą būtent šios T atminties ląstelės galės „prižiūrėti tvarką“ organizme. Tik yra tyrimų, kurie nustatė, kad TRM išlikimui „tarnyboje“ turėjo įtakos IL-7 ir IL-15, kuriuos ekspresuoja naivieji T limfocitai (196). Tačiau tikslesni mechanizmai nežinomi.

2.1.2.2. B limfocitų atsakas (humoralinis imunitetas)

Pagrindinė B ląstelių sukkelto imuninio atsako funkcija – tai antikūnų sintezė. Juos gamina ir išskiria B limfocitų linijos ląstelės. B ląstelės savo membranoje turi antikūnų, ir gali specifiskai atpažinti antigenus, taigi atlikti ir APL funkciją. Aktyvintos antigenų, jos diferencijuojasi į efektorines plazmines ląsteles, išskiriančias antikūnus, kurių pagrindinė funkcija – neutralizuoti ir pašalinti antigenus, sukėlusius jų gaminimąsi, reguliacines ląsteles ir atminties B limfocitus (199, 200). Visų klasių B limfocitai atsiranda iš pirmtakų, gautų iš kraujodaros kamieninių ląstelių. Apsupti kaulų čiulpų stromos ląstelių, jie subręsta iki pre-B ląstelių, kurių membranose jau yra membraninis IgM (mIgM). Jos jau sugeba proliferuoti ir diferencijuotis, veikiamos antigeno, tačiau vis dar vadinamos nesubrendusiomis. Tokios jos palieka kaulų čiulpus. Kur vyksta tolesnis jų brendimas, nėra iki galo aišku: yra įrodymų, kad jis gal vyksti periferiniuose limfmazgiuose, blužnyje. Subrendusiomis jos vadinamos, kai ląstelės paviršiuje turi membraninį IgD (mIgD). Subrędę limfocitai gali ekspresuoti ir IgM, ir IgD (200). Ši brendimo stadija vyksta be antigeno, todėl šie B limfocitai yra vadinami naiviaisiais. Jie cirkuliuoja kraujyje ir išsidėsto periferinių limfinių organų B zonose, kur, be minėtų imunoglobulinų, jie ekspresuoja ir kitas molekules, svarbias ląstelei aktyvinti ar jos veiklai reguliuoti: MHC-II, CD19, CD20, CD21, CD40, CD45R (201).

Kaip ir kalbant apie naivuosius T limfocitus, naiviesiems B limfocitams aktyvintis yra reikalingi du signalai. Antrąjį signalą jiems teikia T efektoriniai pagalbininkai. Viskas vysta limfiniame audinyje (202).

Pirmasis aktyvinimo signalas. Į periferinius limfinius organus antigenas atkeliauja su limfa (kalbant apie limfmazgius), krauju (kalbant apie blužnį) arba yra atnešamas APL. Limfmazgių parakortikalinėje srityje APL pateikia antigeną T limfocitams. Recirkuliuojantys naivieji T pagalbininkai, atpažinę antigeną savo TCR receptoriais, lieka parakortikalinėje srityje, kur jų klonas proliferuoja ir diferencijuojasi į T efektorinius pagalbininkus (201). Naivieji B limfocitai, kurie dalyvaus atsake, lieka T zonose. Antigenui kryžmiškai sujungus B limfocito membranoje du šalia esančius BCR receptorius, aktyvinamas B limfocitas. BCR užfiksuotas antigenas yra įtraukiamas į endosominius skyrius, perdirbamas į peptidus, kurie vėl ekspresuojami ant ląstelės paviršiaus, susieti su MHC-I ir MHC-II molekulėmis. Tai leidžia B limfocitams pateikti antigeninius peptidus tiek CD4+, tiek CD8+ limfocitams, kaip tai darytų APL. Be to, panašiai kaip ir dendritinės ląstelės, B ląstelės ekspresuoja būtinas kostimuliacines molekules ir citokinus, reikalingus

visiškam T limfocitų aktyvavimui. Tai apima B7 ir CD40 molekules, kurios reaguoja su T limfocitų kostimuliaciniais receptoriais CD28 ir CD40L, bei citokinus IL-6 ir IFN γ (202, 203).

Antrasis aktyvinimo signalas. Šis MHC-II ir peptido kompleksas yra pateikiamas T efektoriams pagalbininkams. T limfocito CD28 reaguoja su B limfocito B7 molekule, o jo TCR reaguoja su antigeno peptido ir MHC-II kompleksu. Taip efektorinis T pradeda ekspresuoti CD40L. B limfocito CD40 susijungia su T limfocito CD40, ir tai yra antrasis aktyvinimo signalas B limfocitui ir šis ima proliferuoti (203). Proliferaciją savo ruožtu skatina ir T ląstelių išskiriami citokinai IL-2, IL-4, IL-5. Kadangi CD4 T ląstelę, teikiančią pagalbą, suaktyvina tas pats antigenas, kaip ir B ląstelę, kontaktas ir sąveika tarp šių T ir B ląstelių vadinama gimininga, arba susieta. Po CD40-CD40L molekulių sąveikos prasideda B limfocitų proliferacija T limfocitų zonos pakraštyje, kurie maksimalų dydį pasiekia apie trečią–ketvirtą parą po antigeno patekimo. Po keturių–septynių parų vienos šių ląstelių, veikiamos T limfocitų išskiriamų citokinių, diferencijuojasi į trumpaamžes plazmines ląsteles, migruojančias į limfmazgio medulinę sritį arba blužnies raudonąją pulpą ir gaminančias IgM ir IgG (203). Jos yra pirmasis ankstyvasis cirkuliuojančių antikūnų šaltinis. Kita proliferuojančių B ląstelių dalis kartu su joms giminingais T efektoriais migruoja į artimiausius B limfocitų pirminius folikulus limfmazgio kortikalinėje srityje arba blužnyje. Migravę proliferuojantys B limfocitai suformuoja antrinius folikulus. Šie folikulai (dar vadinami gemaliniais centrais) yra aktyvios B ląstelių proliferacijos, selekcijos ir diferenciacijos vieta. Čia vyksta ir antikūnų afiniškumo tam antigenui subrendimas (dėl imunoglobulinų hipermutacijos bei B limfocitų selekcijos) (204). Šio sudėtingo proceso rezultatas – selekcijos būdu atrinkti B limfocitai, galintys ekspresuoti didelio afiniškumo membraninius imunoglobulinus. Padedamos ten esančių folikulų dendritinių ląstelių išskiriamų IL-1 ir CD23, dalis šių ląstelių virsta plazmoblastais, palieka folikulą ir medulinėje limfmazgio dalyje subręsta į antikūnus sintetinančias plazmines ląsteles. Kita dalis diferencijuojasi į B atminties ląsteles. Vienos B atminties ląstelės lieka folikulo mantijoje limfmazgyje, kitos recirkuliuoja limfinėje sistemoje (205).

Kadangi, kaip jau minėta, pagrindinė B limfocitų funkcija yra antikūnų gamyba, taigi apibendrinsime svarbiausius šių gynybos molekulių bruožus ir apibūdinsime skirtingus jų izotipus ar klases.

Antikūnai, taip pat žinomi kaip imunoglobulinai, yra glikozilintos baltymo molekulės, esančios ant B ląstelių paviršiaus (paviršiaus imunoglobulinai),

veikiančios kaip antigeno receptoriai (BCR), arba yra išskiriamos į tarpląstelinę erdvę, kur jos gali surišti ir neutralizuoti savo tikslinius antigenus (206). Pavyzdžiui, natūralūs IgM antikūnai atlieka svarbų vaidmenį palaikant audinių homeostazę, nes jie sugeba „neutralizuoti“ DAMP, kurie išsiskiria esant išemijos sukeltam audinio pažeidimui arba aterosklerozės sukeltam oksidaciniam stresui (207). Vieną antikūnų molekulę sudaro keturios baltymų grandinės: dvi sunkiosios ir dvi lengvosios, sujungtos viena su kita disulfidiniais ryšiais. Sunkiųjų ir lengvųjų grandinių N galo sritys, sudarančios antigeną rišančią vietą, yra nuolat kintančios ir pagal tą vietą šie antikūnai yra specifiški tam tikriems antigenams. Egzistuoja penki antikūnų (IgM, IgD, IgG, IgA ir IgE) izotipai, arba klasės, ir vieni nuo kitų jie skiriasi pagal sunkiųjų grandinių C galo sritis, kurios yra pastovios ir nedalyvauja rišant antigeną. Tačiau šios sritys (žymimi Fc) yra svarbios antikūnų efektorinėms funkcijoms, t. y. priemonėms, kuriomis antikūnai pašalina antigenus ir sukelia imuninį atsaką (206).

Antikūnai atlieka efektorias funkcijas trimis pagrindiniais būdais: jie neutralizuoja savo taikinius (pvz. susijungia su virusu ir neleidžia jam patekti į ląstelę), aktyvina makrofagus ir kitas imunines ląsteles, jungdamiesi Fc receptoriais (FcR), arba jie suaktyvina klasikinį komplemento sistemos kelią prisijungdami prie C1q (208).

Istoriškai specifinis imuninis atsakas buvo klasifikuojamas į ląstelinį ir humoralinį. Ląsteliniam atsake dalyvauja T limfocitai, kurie tiesiogiai ar netiesiogiai atpažįsta ir atakuoja savo taikinius, pasitelkdami kitas imunines ląsteles, o humoraliniam atsakui būdinga antikūnų gamyba iš B limfocitų ir jų palikuonių – plazminių ląstelių. Šie antikūnai gali prasiskverbti į tarpląstelinius tarpus, kur gali užtikrinti patikimą apsaugą nuo infekcijos ir reaguoti esant audinių pažeidimui, taip pat prisideda prie autoimuninio audinių pažeidimo ir atmetimo reakcijų transplantacijos metu. Todėl B ląstelės tradiciškai buvo siejamos su humoraliniu imunitetu, tačiau, kaip parodė naujausi tyrimai, jos yra svarbios ląsteliniam imunitetui. Apibendrinant galima teigti, jog B ląstelės dalyvauja T ląstelių aktyvacijoje per antigeno pateikimą, kostimuliaciją ir citokinų gamybą; taip pat jos gali tarnauti kaip reguliacinės ląstelės, moduluojančios ir ląstelinį, ir humoralinį atsaką (206).

2.2. Imuninis atsakas, sukeltas širdies operacijų su DKA

Širdies operacijos su dirbtine kraujo apytaka (DKA) visada suaktyvina imuninę sistemą ir sukelia daugiau ar mažiau sunkų sisteminio uždegiminio

atsako sindromą (SUAS). Chirurginė intervencija, išemija ir reperfuzija sukelia audinių pažeidimą, į kurį, kaip jau žinome, visada sureaguoja imuninė sistema, o kraujo sąlytis su sintetiniu kontūru (DKA) ir homeostazės pokyčiai DKA metu, savo ruožtu, aktyvina imuninę sistemą ir kartu skatina SUAS vystymąsi (209). Priešingai nei su patogenais susiję molekuliniai modeliai (PAMP), kurie vyrauja esant sepsio sukeltam uždegimui, su audinių pažeidimu susijusių molekulinų modelių (DAMP) aktyvacija yra ryškesnė (45). Kaip aprašyta 1 skyriuje, pati operacija, audinių vientisumo pažeidimas priverčia į tai reaguoti makrofagus ir šie pradeda gaminti uždegimą skatinančius citokinus. Taip inicijuojamas imuninis atsakas. Šiuo atveju DKA, savo ruožtu, sukelia imuninės sistemos aktyvaciją per komplemento sistemą bei aktyvina neutrofilus (210). Taip pat yra nustatyta, jog uždegimą skatinančius nespecifinio imuniteto žymenis, kaip antai IL-6, TNF- α , dideliais kiekiais sintetina išemijos pažeisti kardiomiocitai – kuo ilgesnė miokardo išemija, tuo didesnis jų kiekis (211). Po pirminio atsako monocitai migruoja į audinių pažeidimo vietas, kur diferencijuojasi į makrofagus ir toliau skatina uždegiminę kaskadą (210). Pažymėtina, jog DKA yra dar vienas labai imunogeninis veiksnys (212). Taigi bendrais bruožais apžvelgsime, kaip vyksta imuninės sistemos aktyvacija jos metu.

Dirbtinė kraujo apytaka (DKA) – tai aparatas, laikinai pavaduojantis širdį ir plaučius širdies operacijos metu. Kad užtikrintų šias svarbias funkcijas, jis turi įgyvendinti dvi sąlygas: kol širdis sustabdyta, jo pompos turi užtikrinti kraujo tėkmę ligonio kraujagyslėmis ir veninį kraują, atėjusį per išorėje esantį sintetinį oksigenatorių, paversti arteriniu, t. y. pašalinti CO₂ ir prisotinti O₂ (213). DKA metu siurblys ir oksigenatorius veikia nefiziologiškai (sintetiniame kontūre nėra homeostazės kompensacinių mechanizmų) ir intravaskulinis slėgis bei kraujo dujų sudėtis dažnai „nuklysta“ už normos ribų (214). Vystosi reikšminga hemodiliucija, dėl kurios persiskirsto skysčiai ir atskiedžiami bei denatūruojami svarbūs plazmos baltymai. Kraujas tekėdamas ne endoteliniais paviršiais ir nuolatos reaguodamas su sintetiniu kontūru, suaktyvina kraujo elementus, susidaro daug vazoaktyvių mediatorių, pakinta kapiliarų pralaidumas, sukeliama hemolizė (215). Labai išbalansuojama krešėjimo sistema (213).

Uždegiminis atsakas, sukeltas DKA, gali būti skirstomas į dvi fazes: ankstyvąją ir vėlyvąją (213):

1. **Ankstyvąją** fazę lemia kraujo kontaktas su sintetiniu kontūru. Natūraliai endotelio ląstelės išskiria subalansuotą kiekį prokoagulantų ir antikoagulantų ir taip reguliuoja kraujo krešėjimo sistemą. Kraujui tekant

DKA kontūru, šis balansas išsikreipia į prokoaguliacinę pusę, todėl kraujas yra heparinizuojamas. Kai heparinizuotas kraujas liečiasi su CPB grandinės vamzdeliais, plazmos baltymai akimirksniu adsorbuojami ant grandinės ir patiria konformacinius pokyčius, dėl kurių receptoriai veikia cirkuliuojančius kraujo baltymus ir ląsteles. Tai sukelia penkių plazmos baltymų sistemų (kontaktinės, vidinės koaguliacijos, išorinės koaguliacijos, fibrinolizinės ir komplemento) ir penkių ląstelių grupių (endotelio ląstelių, limfocitų, monocitų, neutrofilų ir trombocitų) suaktyvėjimą. Kontaktinė sistema tiesiogiai aktyvina vidinę krešėjimo sistemą ir neutrofilus, netiesiogiai – trombocitus, fibrinolizinę sistemą, komplementą ir endotelio ląsteles. Komplemento sistemą taip pat aktyvina ir heparino-protamino kompleksai po heparino reversijos DKA pabaigoje, taip pat žarnyno mikrofloros endotoksinais, kurie išsiskiria sutrikus barjerinei žarnyno funkcijai dėl SUAS. Komplemento sistema yra aktyvinama tiesioginiu ir alternatyviuoju keliais. Suaktyvinta komplemento sistema formuoja membranos atakos kompleksą (angl. *membrane attack complex* – MAC) – tai transmembraninis kanalas, galintis sukelti osmosinių ląstelių lizę ir mirtį. Iš ląstelių atsipalaidavę produktai tampa DAMP ir aktyvina visą imuninę kaskadą iki ląstelinio ir humoralinio imuniteto.

2. **Vėlyvąją** fazę sukelia išemijos-reperfuzijos sindromas ir endotoksemija. Širdies operacijos metu užspaudus kylančiąją aortą, visiškai sustabdomas kraujo tiekimas į širdį ir plaučius (plaučiai gali bronchų arterijomis gauti šiek tiek deguonies turinčio kraujo, bet labai nedaug). Vadinasi, širdį, o mažiau plaučius, kurių laiką būna negauna kraujotakos ir, atleidus spaustuką nuo aortos, atsiradusi kraujotaka sukelia reperfuzinį pažeidimą. Maža to, jie gauna DKA oksigenuotą kraują su supranormalia PaO₂ koncentracija. Šis išemijos-reperfuzijos mechanizmas sukelia didžiulį oksidacinį stresą, kuris savo ruožtu sukelia didžiulį audinių pažeidimą, ir taip yra aktyvinama visa imuninė kaskada. Endotoksemija atsiranda dėl splanchninės hipoperfuzijos, kuri dažnai pasitaiko DKA metu ir po jos. Hipoperfuzija sutrikdo žarnyno gleivinės barjerinę funkciją, tai sudaro sąlygas endotoksemijai (216).

Dėl labai aktyvuoto ir stipraus imuninio atsako sutrinka daugelio organų ir krešėjimo sistemos veikla (213). Taigi imuninės sistemos aktyvacija turi didžiulę reikšmę ligonio baigtims po širdies operacijos. Tačiau tai dar ne viskas.

Prasidėjus SUAS skatinančiai citokinų audrai vystosi kompensacinis uždegimą slopinančio atsako sindromas (CARS). Dideliais kiekiais išskiriami uždegimą slopinantys citokinai IL-4, IL-10, IL-13, IL-19 gali sukelti labai reikšmingą imunosupresiją (217). Labai sumažėja absoliutus limfocitų skaičius, ypač T ląstelių populiacijoje, taip pat žmogaus leukocitų antigeno-DR (HLA-DR arba MHC) ekspresija monocituose (218). Tai ypač gerai iliustruoja ląstelinis imunitetas: nors ligoniams po širdies operacijų yra būdinga leukocitozė, tačiau panagrinėjus giliau aiškėja, kad leukocitozę pagrindė sudaro yra nespecifinio imuniteto ląstelės (pvz. neutrofilai) ir nesubrendusios imuninės ląstelės (pvz. monocitai), o CD4+ ir CD8+ ląstelių, kurios tiesiogiai sudaro ląstelinį imunitetą, skaičius būna labai sumažėjęs ir balansas pakitęs (219, 220). Studijose netgi nepastebėta skirtumų tarp skirtingų operacijų tipų (lyginta vožtuvų operacijos ir koronarinių jungčių suformavimo) (221). Naujesnės studijos rodo, jog dėl pakitusio monocitų atsako T limfocitų skaičius gali būti sumažėjęs net iki 3 mėnesių po širdies operacijų su DKA (210). Taigi, šie ligoniai turi didesnę infekcinių komplikacijų riziką net 12 savaičių po operacijos (210). Be to, po operacijos dažnai atsiranda vis daugiau T reguliacinių (Treg) ląstelių ir neutrofilų (219, 220, 222). Nors operacija gali slopinti ląstelių imunitetą net iki kelių mėnesių, humoralinis imunitetas išlieka santykinai nepakitęs (223). Gunnaras Lachmannas su kolegomis, išnagrinėję imuninio atsako atsigavimą po didelės apimties operacijų (224), paskelbė, jog visiems pacientams nustatyta pooperacinė imunosupresija pasireiškė taip: labai sumažėjo bazofilų, eozinofilų, NK ląstelių, limfocitų, išskyrus B ląsteles, skaičius, taip pat sutriko monocitų (mHLA-DR, TNF- α ir IL-10 LPS stimuliuojamų monocitų išsiskyrimas) ir T ląstelių (IFN γ išsiskyrimas po stimuliacijos) funkcija, o neutrofilų ir monocitų skaičius padidėjo (224). Tai patvirtino ir anksčiau atliktų studijų duomenis (225). G. Lachmanno ir bendraautorijų atliktas tyrimas rodo, jog nespecifinio imuniteto ląstelės po operacijos atsistato daug greičiau nei nespecifinio. Konkrečiai kalbant, įgimtos imuninės ląstelės beveik visos atsistatė 2–3-ią parą po operacijos (kai kurios 5-ą pooperacinę parą, tačiau iki 5-os paros nespecifinio imuniteto ląstelės grįžo į pradinę būseną), o įgytų imuninių ląstelių (limfocitų, T ląstelių, T pagalbininkų ir citotoksinių T ląstelių) skaičius neatsistatė net iki 5-os pooperacinės paros. B ląstelių po operacijos nesumažėjo. Šios studijos autoriai papildomai ištyrė limfocitų pogrupių pokyčius ir pastebėjo, jog Th1 limfocitų smarkiai sumažėja 1-ą pooperacinę parą, ir jų skaičius neatsistato net 5-ą parą. Jie šias išvadas interpretavo taip: sumažėjęs T ląstelių skaičius periferiniame šių ligonių kraujyje atspindi padidėjusį šių ląstelių apoptozės dažnį. Anksčiau

skelbti klinikiniai tyrimai parodė chirurginių procedūrų įtaką cirkuliuojančių kraujyje limfocitų apoptozei (226). Ištyrus T ląstelių funkcinius parametrus pastebėta, jog Th1 specifinių citokinų sumažėjo, o Th2 specifiniai citokinai nepakito pirmą dieną po operacijos, ir tai rodo uždegimą slopinantį atsaką iškart po operacijos. Kaip žinome iš ankstesnių studijų, Th1 ir Th2 citokinų disbalansas yra susijęs su padidėjusiu jautrumu pooperacinėms infekcijoms (227). Keletas tyrimų parodė, kad T ląstelių pagalbininkų (TH) skaičius ir funkcija labai pakinta ir po širdies operacijų su DKA (228, 229). Manoma, jog taip nutinka dėl uždegimą skatinančių Th1 citokinų (IFN γ ir IL-2) ir uždegimą malšinančių Th2 citokinų (IL-4 ir IL-10) sintezės slopinimo (230). Axelis Franke ir kolegos atliko tyrimą su mažos rizikos kardiochirurginiais ligoniais (231). Jie norėjo įvertinti, kokią įtaką ląsteliniam imunitetui daro operacijos su DKA. Jie pastebėjo, jog iš karto po operacijos bendras Th skaičius padidėjo, tačiau pirmą pooperacinę parą absoliutus T ląstelių skaičius sumažėjo iki minimumo, taip pat buvo pastebėtas ženklus IFN γ sintezės slopinimas, o IL-4 ir IL-10 koncentracija liko nepakitusi. Tai taip pat įrodo faktą, jog labai susilpnėja Th1 aktyvumas, o Th2 lieka nepakitęs ir visa tai gali sukelti bendrą leukocitų skaičiaus sumažėjimą ir imunosupresiją. Franke ir kolegos iškėlė hipotezę, jog pastebėtas Th1 gaminamų citokinų sintezės sumažėjimas artimiausiu pooperaciniu laikotarpiu gali būti susijęs ir su mechaniniu limfocitų pakitimu DKA metu ir dėl to atsiradusia vėlesne apoptozės indukcija. Panašias išvadas pateikė ir Ankersmitas su kolegomis, tyrinėję imuninės sistemos pokyčius pacientams, turintiems kairįjį skilvelį pavaduojančią sistemą (angl. *left ventricular assist device* – LVAD) (232). IL-2 gamina naivieji T limfocitai, taigi operacijos aktyvintas nespecifinis imunitetas aktyvina recirkuliuojančius T limfocitus, šie proliferuoja, diferencijuojasi, tačiau aktyvinęsi mechaniškai pakitę Th1 jau gamina labai mažai INF γ , tai sutrikdo Th1 ir Th2 pusiausvyrą ir lemia bendrą leukocitų skaičiaus sumažėjimą (225). Taigi imunosupresiją atliekant širdies operacijas su DKA sukelia dvi priežastys: didelės apimties operacinė trauma ir mechaninis DKA poveikis, ir jos abi lemia ženklią imunosupresiją. Sumažėjęs T limfocitų skaičius ir mūsų atliktos studijos duomenimis išliko daugiau nei penkias pooperacines paras, o nespecifinio imuniteto žymenys taip pat visiškai grįžo į normos ribas per penkias paras po operacijos (231).

2.3. Kardiochirurginiai ligoniai

Pastaraisiais metais pacientai, kuriems atliekama širdies operacija, yra vyresni, silpnesni ir turi daugiau gretutinių ligų, nei anksčiau. Tai lemia gyventojų senėjimas, neinvazinės kardiologijos metodų pažanga ir

patobulintas gydymas, dėl kurio padaugėja lėtinėmis ligomis sergančių pacientų, kuriems reikalingos širdies operacijos. Kita vertus, labai patobulėjus anestezijai, chirurginiam ir perioperaciniam gydymui ir nuolat juos tobulinant, chirurgai gali operuoti pacientus, kurių vos prieš keliolika metų būtų atsisakyta (233). 1999 m. į klinikinę praktiką buvo įdiegta EuroSCORE skaičiuotė mirštamumui po širdies operacijų numatyti. Ši skaičiuotė buvo sukurta remiantis 1995 m. iš įvairių širdies chirurgijos centrų surinktais duomenimis. Vėliau, apie 2006–2009 m., ėmėsi rasti įvairių publikacijų (234, 235), kuriose nustatyta, jog, pagėrėjus chirurginei, anesteziologinei bei intensyviosios terapijos technikai, metodikoms bei žinioms, EuroSCORE skaičiuokle apskaičiuojamas didesnis mirštamumas, nei jis yra. Taigi 2012 m. buvo išleista EuroSCORE II skaičiuoklė pagal 2010 metų duomenis. Ją kuriant buvo pastebėtas paradoksas, jog per 15 metų, kurie skiria šias dvi skaičiuokles, ligoniai tapo vyresni, turintys daugiau gretutinės patologijos, tačiau išties jų mirštamumas buvo labai sumažėjęs dėl mokslo ir technologijų pažangos. Nors EuroSCORE II vertė yra nedidelė, tačiau ligoniai yra sunkūs ir pooperacinis jų sergamumas vis dar išlieka problema (15).

Vyresnio amžiaus, gretutinių ligų turintys suaugusieji sudaro vis didesnę kardiochirurginių pacientų dalį. Populiarėjanti sąvoka „trapumas“ (angl. *frailty, fragile*) tapo labai aktuali ir širdies chirurgijoje, nes tokie ligoniai dažnai pasižymi trapumu ir susidūrę su perioperaciniais stresoriais visiškai netenka fiziologinio rezervo, kuris jau prieš operaciją būna sumažėjęs (236). Laikotarpiu, kai pabrėžiama medicinos vertė, svarbiausi prioritetai yra išsiaiškinti labiausiai pažeidžiamus pacientus, nustatyti tinkamą jų gydymo kursą ir tam skirti vertingus išteklius. Šiuose procesuose nemažą vaidmenį gali atlikti trapumo samprata. Geriatrine kalba kalbant, trapumas konkrečiau pripažįstamas geriatrijos sindromu, kuriam būdingas „per didelis pažeidžiamumas streso veiksniams, esant sumažėjusiam gebėjimui palaikyti ar atkurti homeostazę po destabilizuojančio įvykio“ (237). Taigi, trapumas siejamas su padidėjusia neįgalumo ir sergamumo rizika po operacijos (236). Nors galbūt trapumas ir yra lengvai suprantamas daugelio gydytojų, tikslų jo apibrėžimą nebuvo lengva standartizuoti, kaip ir nėra lengva sukurti jo diagnostikos ar sunkumui įvertinimo metodą.

Pirmuosius kriterijus pristatė Fried ir kt. (238). Autoriai apibrėžė trapumą taikydami šiuos kriterijus: netyčinis svorio kritimas, išsekimas, silpnumas, lėtas ėjimo greitis ir mažas fizinis aktyvumas. 2001 m. dr. Kenas Rockwoodas ir kolegos pasiūlė apskaičiuoti trapumo indeksą (239). Čia kintamieji buvo medicininiai simptomai, laboratorinių rodiklių vertės ir negalios. Trapumo

indeksas grindžiamas pagrindine teorija, kad senėjimas vyksta dėl to, kad visą gyvenimą kaupiasi molekuliniai pažeidimai, dėl kurių sutrinka organų funkcija (240, 241). Buvo sukurta ir daugiau metodų (242, 243), tačiau nė vienas netapo aukso vertės standartu diagnozuojant trapumą (244).

Bioelektrinio impedanso analizė (BIA) – metodas, leidžiantis lengvai išmatuoti kūno sudėtį, ir jis gali būti naudojamas siekiant įvertinti organizmo trapumą (245). BIA leidžia išmatuoti įvairių audinių (pvz. riebalų, raumenų ir kaulų) elektrinės varžos skirtumus, naudojant silpną kūno srovę. Tarp BIA išmatuotų bioimpedanso parametrų fazės kampas (FK) yra vienas iš kliniškai svarbiausių. Fazės kampas apibrėžiamas kaip pasipriešinimo (viduląstelinio ir tarpląstelinio) ir reaktyvumo (ląstelės membranos atsparumo) santykis, išreikštas kampu. Jis laikoma ląstelių membranos funkcijos rodikliu ir paprastai naudojamas ląstelės gyvybingumui vertinti (246, 247). FK prognozuoja sutrikusius klinikinius rezultatus ir mirtingumą nuo įvairių ligų (246, 247, 248, 249). Jis atspindi ir minkštųjų audinių kiekį bei kokybę, o aukštas FK rodo didesnę ląstelių kiekį ir geresnę ląstelių membranos ar ląstelių funkciją; taigi tai yra ląstelių sveikatos rodiklis (250, 251). M. Visser ir kolegos, atlikę studiją su kardiochirurginiais ligoniais, paskelbė, kad FK $<5,38$ yra susijęs su nepalankiomis baigtimis po širdies operacijos (252). Yra keletas studijų, patvirtinančių, jog BIA fazės kampas gali būti naudojamas trapumo diagnostikai (253, 254) ir yra susijęs su nepalankiomis baigtimis po operacijos. S. Tanaka (245) su kolegomis nagrinėjo BIA fazės kampo sąsajas su kitais trapumą diagnozuojančiais metodais – Friedo ir Rockwoodo. Ištyrę 550 pacientų jie išsiaiškino, jog, esant BIA FK reikšmei $<5,5$, trapumas gali būti nustatomas ir kitais metodais. Taip pat tyrėjai pastebėjo, kad fazės kampo vertė yra jautri amžiui, lyčiai ir KMI (255). A. B. Westphal su kolegomis sukūrė didžiulę duomenų bazę ir bandė standartizuoti FK pagal rasę, amžių ir KMI (256). Jis taip pat pastebėjo, kad mažesnės FK reikšmės yra susijusios su didesniu sergamumu ir mirštamumu dėl sumažėjusio ląstelių gyvybingumo.

Nors senėjimas nėra trapumo sinonimas, tačiau abiejų procesų pagrindas yra tie patys bendri mechanizmai, kurie apima funkcijos pablogėjimą ląstelių, audinių ir organų lygmeniu (257).

Manoma, kad apoptozės, senėjimo, autofagijos ir mitochondrijų disfunkcijos procesų koordinacija atlieka pagrindinį vaidmenį senėjimo biologijoje (258). Pavyzdžiui, dėl mitochondrijų funkcijos sutrikimo gali padidėti laisvųjų radikalų kiekis ir sumažėti energijos gamyba. Taip pat energijos apykaitą reguliuojantys hormonai, pvz. augimo hormonas, androgenai ir insulino tipo

augimo faktorius-2 mažėja su amžiumi ir yra svarbūs trapumo patogenezėje (259, 260).

Vyresni žmonės turi gan gausią gretutinę patologiją, taip pat yra daugybė tyrimų, rodančių, kad lėtinės ligos atlieka svarbų vaidmenį vystantis trapumui (261). Be tiesioginio, konkrečiam organui būdingo poveikio, lėtinės ligos gali suaktyvinti fiziologines sistemas, įskaitant nespecifinį imuninį atsaką, simpatinę nervų sistemą, hipotalamo-hipofizės ašį (262). Iš tiesų, kelių studijų duomenimis, trapūs ligoniai, palyginti su netrapiais, turėjo didesnę IL-6 (263) ir C reaktyviojo baltymo (264) kiekį. Pakitusi uždegiminė būseną turi pleiotropinį poveikį ir greičiausiai prisideda prie tolesnių pokyčių, įskaitant ir specifinio imuninio atsako disbalansą.

Nors yra tyrėjų, teigiančių, jog vyresniems žmonėms nebūdingas audringas širdies operacijos su DKA sukeltas SUAS (265), vis dėlto net ir mažesnė imuninė reakcija sukelia didesnę imunosupresiją ląstelinio imuniteto lygmeniu, o sumažėję fiziologiniai rezervai neleidžia greitai atsigauti (245).

2.4. Imunomityba

Daugumos organizmo ląstelių bei audinių normaliai veiklai reikalingas nuolatinis maisto medžiagų, ypač aminorūgščių, tiekimas. Imuninės sistemos aktyvacijai reikia daug energijos išteklių, tad sklandžiai jos funkcijai turi būti patenkinami nauji poreikiai, turint omenyje ir padidėjusią uždegimo mediatorių sintezę (146). Įvykus aseptiniam ar septiniam pažeidimui ir bendrai padidėjus energiniams organizmo poreikiams, dažnai imuninės sistemos ląstelės turi veikti esant ribotai maistinių medžiagų mikroaplinkai (266, 267).

Nors gliukozė yra gyvybiškai svarbus metabolitas ir pagrindinis kuras daugeliui kūno ląstelių, imuninės sistemos ląstelės – limfocitai, neutrofilai ir makrofagai, esant katabolinėms situacijoms (pvz.: sepsis, didelės apimties operacija, trauma, nudegimas, didžiulis fizinis krūvis ir kt.), naudoja glutaminą dideliais kiekiais, dažnai net didesniais nei gliukozę (268). Šią teoriją 1980 m. pirmą kartą eksperimentiškai patvirtino Erico Newsholme'o (1935–2011, žinomas kaip hipotezės apie „imunometabolizmą“ autorius, ją ir irodęs) laboratorija (269, 270) Oksfordo universitete, vėliau – ir daugelis kitų laboratorijų visame pasaulyje (271, 272, 273). Dėl šios priežasties glutaminas laikomas imuninės sistemos degalais: esant sumažėjusiai jo koncentracijai kraujyje gali sutrikti imuninių ląstelių funkcija, pablogėti klinikiniai rezultatai ir padidėti mirtingumo rizika (274). Glutaminas – sąlyginai pakeičiama

aminorūgštis, imunomoduliuojamoji maistinė medžiaga, kuri reikalinga daug energijos eikvojančiam T ląstelių dauginimosi ir aktyvacijos procesui, visuotiniam limfocitų skaičiaus padidėjimui, citokinų gamybai ir makrofagų fagocitinei funkcijai, todėl prisideda prie geresnių pacientų rezultatų (275, 276, 267). Normaliomis sąlygomis sveikame organizme glutamino atsargos yra didelės, tačiau esant kataboliniam stresui dėl SUAS dideli jo kiekiai išskiriami iš raumenų ir atsargos išsekvojamos. Eksperimentinės ir klinikinės studijos parodė, jog glutaminas yra ypač svarbus T ląstelių proliferacijai ir diferenciacijai (277, 278), mitogeno sukeltam T ląstelių aktyvinimuisi ir citokinų gamybai (279, 280, 281, 282). Eksperimentiniai žinduolių tyrimai parodė, jog sumažinus glutamino kiekį vos 50 %, sutrinka T ląstelių proliferacija, o jeigu jo kiekis nesiekia 10 % normalaus lygio, atsiranda absoliuti proliferacijos blokada. Nebelikus glutamino aplinkoje blokuojama IL-2 ir IFN γ sekrecija aktyvintose Th1 ląstelėse. Kitų aminorūgščių trūkumas turėjo skirtingą poveikį citokinų gamybai, tačiau glutaminas buvo unikalus, nes jo būtinai reikėjo tiek IL-2, tiek IFN γ (Th1 gaminamų citokinų) sintezei. Pažymėtina, kad jokios kitos aminorūgšties išsekvojimas daugiau nei 50 % neslopino IL-2 gamybos ir neturėjo tokios įtakos T ląsteliniam atsakui (37).

Atliekant eksperimentinius tyrimus su pelėmis pastebėta, jog T limfocitų TCR receptoriaus suaktyvinimas antigeno ir HLA kompleksu sukelia glutaminą „importuojančio“ baltymo ASCT2 ekspresiją T ląstelėje, o glutamino sumažėjimas aplinkoje slopina uždegimą skatinančių CD4 pagalbininkų 1 (Th1) ir Th17 ląstelių *in vivo* vystymąsi. Vadinasi, T ląstelių imuninę reakciją gali formuoti T ląstelių maistinė mikroaplinka (283, 284). Šiose studijose patikrino ir CD69 – ankstyvąjį T limfocitų aktyvumo žymenį, ir gavo išvadas, jog CD69 nebuvo ekspresuojamas T limfocitų membranose, kai nuo TCR priklausoma T ląstelių aktyvacija vyko terpėje, kurioje nebuvo glutamino (37).

H. Buter su kolegomis, atlikę perspektyvią kardiologinių ligonių studiją, kurioje tyrė glutamino koncentraciją kraujyje prieš širdies operaciją ir po jos bei žiūrėjo, ar yra ryšys tarp glutamino koncentracijos ir infekcinių komplikacijų, nustatė, jog po operacijos glutamino koncentracija buvo gerokai mažesnė nei prieš operaciją ir tai siejosi su infekcinėmis komplikacijomis po operacijos (35). Glutathionas, kurio pirmtakas yra glutaminas, yra pagrindinė medžiaga kovojant su oksidaciniu stresu (34), ir tai ypač aktualu širdies chirurgijoje. J. M. Engel su kolegomis, ištyrę ligonius po širdies operacijos su DKA, pastebėjo, jog ligoniai, kuriems buvo skirta

glutamino, turėjo reikšmingai padidėjusią glutationo koncentraciją kraujyje, palyginti su tais, kuriems glutamino neskirta (34).

Tai leido sukurti imunomoduliuojamųjų dietų, arba imuninės mitybos (IMN), idėją, kad būtų galima neutralizuoti pooperacinę imuninę depresiją ir pagerinti chirurginių pacientų bendrą klinikinę baigtį (285, 286, 287). Pagerindama ląstelinį imunitetą, neutrofilų fagocitinį aktyvumą ir padidindama bendrą limfocitų kiekį, IMN sumažina pooperacinių infekcinių komplikacijų dažnį ir hospitalizacijos trukmę, pagerina kritinės būklės ligonių mitybą (286, 287, 288). Anksčiau manyta, kad IMN yra naudinga tik nepakankamai maitinamiems pacientams. Tačiau naujausi tyrimai parodė, kad šis įsitikinimas yra klaidingas ir IMN gali būti tinkama tiek geros mitybos, tiek nepakankamos mitybos pacientams (289, 267)

Buvo išbandyta keletas imunomitybos modelių: prieš operaciją, visu perioperaciniu laikotarpiu ir po operacijos. Aprašyta šių trijų imunomitybos modelių įtaka ligonių baigtims po galvos ir kaklo onkologinių ligų, viršutinės ir apatinės virškinamojo trakto dalies bei ginekologinių onkologinių ligų chirurginio gydymo (267). Priešoperacinė imunomityba statistiškai reikšmingai pagerino baigtis tų ligonių, kuriems buvo atlikta apatinės virškinamojo trakto dalies operacija, visose kitose studijose (galvos ir kaklo bei viršutinės virškinamojo trakto dalies onkologinės chirurgijos) geriausi rezultatai buvo gauti taikant pooperacinę enterinę imunomitybą (267). Taip pat yra publikuota viena studija, kurioje buvo tirti kardiochirurginiai ligoniai, kuriems atlikta aortokoronarinių jungčių suformavimo operacija (AKJO). Jiems buvo taikoma priešoperacinė imunomityba glutaminu (290). Šios studijos duomenimis, imunomitybos grupėje buvo daug mažesnis miokardo pažeidimas ir sergamumas, palyginti su kontroline (290). J. Engel ir kolegės ištyrė didelės rizikos kardiochirurginius ligonius, kuriems taikė perioperacinę mitybos terapiją parenteriniu glutaminu didelėmis dozėmis, įvertino T ląstelių aktyvumą pagal aktyvuotų T limfocitų citokinų koncentracijas ir palygino su klinikinėmis baigtimis (276). Nors citokinų koncentracijos tarp grupių skyrėsi, tačiau klinikinės baigtys nesiskyrė. Tyrėjai padarė išvadą, jog tik esant glutamino trūkimui perioperacinė imunomityba glutaminu yra naudinga. Europos enterinės ir parenterinės mitybos draugija (ESPEN) 2017 m. išleistose Klinikinės mitybos chirurginiams ligoniams (angl. *clinical nutrition and surgery*) rekomendacijose teigia, jog priešoperacinę imunomitybą reikėtų skirti tik ligoniams, kuriems prieš operaciją nustatytas akivaizdus mitybos nepakankamumas, o mitybos terapiją po didelės apimties operacijų apsvarstyti visiems ligoniams, kurie negali pakankamai maitintis peroraliniu būdu (291).

Širdies chirurgijoje taikyti priešoperacinę imunomitybą yra gana sudėtinga, nes daugiau nei pusė ligonių, kuriems planuojama širdies operacija, yra hospitalizuojami dieną prieš operaciją arba tą pačią dieną ir daugumos kardiochirurginių ligonių paruošimas operacijai vyksta ambulatoriškai, todėl priešoperacinės mitybos terapijos tyrimai būtų sunkiai įgyvendinami ir turėtų mažai praktinės reikšmės. Dėl šios priežasties 2017 metų ekspertų rekomendacijose dėl mitybos terapijos širdies chirurgijoje (292) skelbiama, jog kol kas geriausia metodika – įvertinti ir koreguoti ar papildyti šių ligonių mitybą iškart po operacijos arba netrukus po atvykimo į reanimacijos ir intensyviosios terapijos skyrių. Šių pacientų netgi ankstyvosios pooperacinės įprastos mitybos tyrimų taip pat atlikta nedaug, todėl dabartinė praktika leidžia specialistams pradėti mitybos terapiją tik individualiai pagal paciento poreikius.

Mūsų žiniomis, nėra paskelbta nė vienos studijos, kurioje būtų tirtas pooperacinės imunomitybos glutaminu poveikis ligoniams po širdies operacijų. Tačiau ligonių po onkologinių operacijų, traumų pooperacinės imunomitybos glutaminu tyrimai parodė, jog imunomitybos grupėje ląstelinio imuniteto ląstelės ir citokinai (CD4+, CD8+ T limfocitai ir IL-2) greičiau grįžo į normos ribas nei kontrolinėje grupėje (32, 38, 267, 285). Taip pat daugelis autorių, nagrinėjusių imuninį atsaką į širdies operacijas (22, 37, 34), aptardami savo atliktų tyrimų rezultatus yra kėlę hipotezę, jog pooperacinė imunomityba gali būti jiems naudinga.

Kadangi įrodyta, jog po širdies operacijų glutamino koncentracija kraujyje sumažėja ir tai daro neigiamą poveikį baigtims (35), o glutaminas palankiai veikia ląstelinį imunitetą ir padeda išsaugoti žarnyno barjerinę funkciją (28, 33, 37, 38, 275, 277, 279, 280, 282), todėl manome, jog pooperacinė imunomityba glutaminu po širdies operacijų turėtų būti naudinga ir praktiškai lengvai įgyvendinama.

3. TYRIMO METODIKA

3.1. Tiriamieji ir jų atranka

Tai atviras atsitiktinių imčių kontroliuojamasis tyrimas, atliktas nuo 2015 m. vasario iki 2017 m. birželio Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Anesteziologijos, intensyviosios terapijos ir skausmo gydymo centre. Tyrimui atlikti gautas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto pritarimas Nr. 158200-12-561-162. Taip pat tyrimas užregistruotas JAV Nacionalinės medicinos bibliotekos prie Nacionalinių sveikatos institutų (angl. *National Library of Medicine at the National Institutes of Health*) internetinėje svetainėje www.clinicaltrials.gov ir gautas identifikacinis numeris NCT04047095. Tyrime dalyvavo planiniai mažos operacinės rizikos kardiochirurginiai ligoniai, kuriems bioelektrinio impedanso (BIA) metodu yra nustatyta mažesnė fazės kampo (FK) vertė, rodanti sumažėjusį ląstelių gyvybingumą.

Prieš pradėdant tyrimą jo dalyviams buvo suteikta visa informacija apie tyrimą, ir tik tie ligoniai, kurie pasirašė informuoto asmens sutikimo formą, galėjo būti įtraukti į tyrimą.

Tiriamoji grupė – tai mažos operacinės rizikos planinių kardiochirurginių ligonių, turinčių mažesnę ląstelių gyvybingumą, kohorta. Tyrimo tikslas buvo įvertinti ankstyvosios pooperacinės peroralinės imunomitybos glutaminu ir vitaminų bei antioksidantų mišiniu įtaką šių ligonių imuniniam atsakui bei klinikinėms baigtims po širdies operacijų. Visiems ligoniams vieną dieną prieš operaciją buvo vertinamas ląstelių gyvybingumas bioelektrinio impedanso analizės (BIA) metodu. Ligoniai, atitikę atrankos kriterijus ir neturintys atmetimo kriterijų bei pasirašę sutikimo dalyvauti tyrime formą, buvo įtraukti į tyrimą. Po įtraukimo visi tiriamieji buvo surašyti į nuasmeninimo žurnalą bei kiekvienam suteiktas identifikacinis numeris. Tiriamieji į grupes suskirstyti atsitiktiniu būdu (randomizuoti), naudojant paprastą randomizacijos seką: lyginį skaičių turintys pacientai priskirti imunomitybos (IM) grupei, nelyginį – kontrolinei (K) grupei. Abiejų grupių ligoniams buvo imami kraujo tyrimai (sisteminio uždegiminio atsako žymenų bei specifinio ląstelinio imuniteto ląstelių) dieną prieš operaciją arba operacijos dieną. Imunomitybos grupės buvo tiriamiesiems buvo paskirta imunomityba glutamino, vitaminų ir antioksidantų mišiniu ir įprastinė ligoninės dieta 5 paras po operacijos. Kontrolinė grupė gavo įprastą dietą.

Šeštą parą po operacijos buvo kartojami kraujo tyrimai. Visą tyrimo laiką buvo stebimos pooperacinės komplikacijos ir klinikinės būklės pokyčiai.

Ankstyvosios pooperacinės baigtys buvo stebimos per visą hospitalizacijos laiką arba 30 dienų po operacijos, jeigu ligonis buvo išleistas į namus ar reabilitaciją nepraėjus 30 dienų po operacijos.

Iš vėlyvųjų baigčių vertinome vienerių metų mirštamumą bei pakartotinių hospitalizacijų skaičių per metus.

3.1.1. Įtraukimo ir atmetimo kriterijai

Įtraukimo kriterijai:

1. Planinė širdies operacija su dirbtine kraujo apytaka (DKA): aortokoronarinių jungčių suformavimo operacija (AKJO), aortos vožtuvo protezavimas (AVP), mitralinio vožtuvo protezavimas (MVP), triburio vožtuvo plastika (TVpl) ir sudėtinės operacijos (AKJ kartu su AVP ar MVP);
2. BIA FK reikšmė $<5,5$;
3. Tiriamųjų amžius 18–80 metų;
4. Pasirašyta sutikimo dalyvauti tyrime forma.

Atmetimo kriterijai:

1. Širdies operacija, žinoma iš anamnezės;
2. Kairiojo skilvelio išstūmimo frakcija (KS IF) $<40\%$;
3. Spaudimas plaučių arterijoje >55 mmHg;
4. Infekcinio endokardito diagnozė;
5. Implantuotas elektrinis širdies stimulatorius;
6. Komplikuota operacijos eiga: neplanuota chirurginė intervencija arba mažo minutinio tūrio sindromo išsivystymas operacijos metu: nesėkmingas nujunkymas nuo DKA, intraaortinio kontrapulsacijos balionėlio įstūmimas į kylančiąją aortą ir intraaortinės balioninės kontrapulsacijos (IABK) taikymas arba hemodinamika palaikoma dviem ar daugiau simpatomimetikų, kurių kumuliacinė dozė yra $>0,2$ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$;
7. Operacijos laikas >6 valandos.

3.1.2. Duomenys ir jų rinkimas

Demografiniai rodikliai, gretutinės ligos bei priešoperacinio laboratorinio ir instrumentinio ištyrimo bei operacijos duomenys buvo renkami iš medicininės dokumentacijos.

3.1.3. Demografiniai rodikliai

Demografiniai rodikliai:

1. amžius;
2. lytis;
3. kūno masės indeksas (KMI). Tai žmogaus kūno masės (kg) ir ūgio (cm) kvadrato santykis.

3.1.4. Gretutinės ligos ir rizikos įvertinimo skalės

1. Širdies nepakankamumo klasė pagal Niujorko širdies asociacijos (angl. *New York Heart Association* – NYHA) klasifikaciją. Tai subjektyviais paciento nusiskundimais paremta lėtinio širdies nepakankamumo klasifikacija (293).

NYHA klasė	Funkcinės ypatybės	Objektyvūs duomenys
I	Ligoniai, sergantys širdies liga, bet nejaučiantys jokių fizinės veiklos apribojimų. Įprastinis fizinis krūvis nesukelia jokių silpnumo požymių, palpitacijos, dusulio ar stenokardinių skausmų.	Jokių objektyvių kardiovaskulinės patologijos požymių.
II	Ligoniai, sergantys širdies liga ir jaučiantys nedidelius fizinio krūvio apribojimus. Šie ligoniai gerai jaučiasi būdami ramybės būsenos. Normalus fizinis krūvis sukelia silpnumą, palpitaciją, dusulį arba stenokardinius skausmus.	Objektyviai nustatoma minimali kardiovaskulinė patologija.
III	Ligoniai, turintys ryškius fizinio krūvio apribojimus. Šie ligoniai gerai jaučiasi būdami ramybės būsenos. Mažesnis nei normalus	Objektyviai nustatoma vidutinio sunkumo kardiovaskulinė patologija.

	fizinis krūvis sukelia silpnumą, palpitaciją, dusulį arba stenokardinius skausmus.	
IV	Ligoniai, turintys ryškius fizinio krūvio apribojimus. Šie ligoniai net ir ramybės metu jaučia diskomfortą. Padidinus fizinį krūvį diskomforto pojūtis sustiprėja.	Objektyviai nustatoma sunki kardiovaskulinė patologija.

2. Fizinės būklės įvertinimas pagal Amerikos anesteziologų draugijos (angl. *American Society of Anaesthesiologists* – ASA) klasifikaciją. ASA fizinės būklės klasifikavimo sistema yra skirta įvertinti ir standartizuoti priešoperacinei paciento būklei nepriklausomai nuo planuojamos operacijos (294).

ASA klasė	Būklės aprašymas
I	Neturintis gretutinių ligų
II	Pacientas, sergantis nesunkia sisteme liga, kuri nesukelia jokių funkcijos apribojimų
III	Pacientas, sergantis sunkia sisteme liga, kuri sukelia funkcijos sutrikimus (pvz. gydymui atspari hipertenzija, cukrinis diabetas su kraujagyslių komplikacijomis, stenokardija, buvę miokardo infarktai, fizinį aktyvumą ribojanti plaučių liga)
IV	Pacientas, sergantis sunkia, nuolat keliančia grėsmę gyvybei sisteme liga (pvz. stazinis širdies nepakankamumas, nestabili stenokardija, progresuojanti plaučių, kepenų, inkstų disfunkcija)
V	Mirštantis pacientas, kai nesitikima, kad jis išgyvens nepriklausomai nuo to, ar bus operuotas (pvz. plyšusi aortos aneurizma, plaučių arterijos embolija, galvos trauma su padidėjusiu intrakranijiniu spaudimu)
VI	Pacientas, kuriam konstatuota smegenų mirtis ir imami organai transplantacijai
E	Pacientas, kuriam atliekama skubi operacija („E“ pridėjama prie klasifikacijos numerio)

3. Charlson sergamumo indeksas

Charlson sergamumo indeksas (angl. *Charlson Comorbidity Index* – CCI) plačiai visame pasaulyje naudojama skaičiavimo sistema, skirta įvertinti ligonio gretutinių ligų lygiui ir jų galimai įtakai ligonio prognozei (295). Yra keletas šios skaičiuoklės variantų, labiausiai tinkančių būtent tam tikromis ligomis sergantiems ligoniams (296). Paprastai jis skaičiuojamas atsižvelgiant į 17 iš anksto nustatytų gretutinių ligų skaičių bei jų sunkumą: miokardo infarktas, stazinis širdies nepakankamumas, periferinių kraujagyslių liga, smegenų kraujotakos liga, demencija, lėtinė plaučių liga, jungiamojo audinio liga, opinė liga, lengva kepenų liga, diabetas, hemiplegija, vidutinio sunkumo ar keli inkstų sutrikimai, diabetas su galutiniais organų pažeidimais, bet koks navikas, vidutinio sunkumo ar sunki kepenų liga, metastazavęs solidinis navikas, AIDS. Kiekvienai ligai yra suteikiamas skirtingas svoris balais, atsižvelgiant į jos ryšį su 1 metų mirtingumu. Jame pateikiamas svartinis paciento gretutinių ligų balas, kuris gali būti naudojamas numatant trumpalaikius ir ilgalaikius rezultatus, pavyzdžiui, funkciją, buvimo ligoninėje trukmę ir mirtingumą. Klasikiniu atveju CCI yra naudojamas mirštamumui numatyti. Remiantis CCI balais, gretutinių ligų sunkumas buvo suskirstytas į tris klases: lengva – 1 balas, vidutinio sunkumo – 3–4 balai ir sunki – ≥ 5 balai (297).

4. Mirštamumo rizikos po širdies operacijų įvertinimas pagal EuroSCORE II skaičiuoklę. Europos širdies chirurgijos operacinio mirštamumo rizikos vertinimo sistema II (angl. *European System for Cardiac Operative Risk Evaluation* – EuroSCORE II) yra priemonė, skirta įvertinti mirštamumui po neseniai atliktos širdies operacijos tos pačios hospitalizacijos metu. Tai logistinės regresijos modelis, kuriame skirtingais koeficientais yra vertinama amžius, lytis, ekstrakardinė arteriopatija, lėtinė plaučių liga, neurologinių ligų ar raumenų ir kaulų sistemos sutrikimų sukeltas nejudrumas, insulinu gydomas cukrinis diabetas, pakartotinė širdies operacija, kreatinino klirensas, aktyvus infekcinis endokarditas, kritinė priešoperacinė būklė, kairiojo skilvelio funkcija – kairiojo skilvelio išstūmimo frakcija, ramybės krūtinės angina, buvęs ūminis miokardo infarktas per 90 dienų laikotarpį, sistolinis spaudimas plaučių arterijoje, operacijos skubumas ir planuojamos operacijos apimtis (15). Pažymėjus tas ligas ar būkles, kurios tuo metu yra, iš jų apskaičiuojama mirštamumo rizika procentais. Mirštamumo rizikos įvertinimas pagal EuroSCORE II skaičiuoklę yra rekomenduojamas Europos kardiologų draugijos ir Europos širdies ir krūtinės chirurgijos asociacijos visiems ligoniams prieš širdies operaciją (10, 11). Mes savo studijoje

naudojome EuroSCORE II skalę kaip atrankinį metodą, siekdami suformuoti mažos operacinės rizikos ligonių grupę. Mūsų pasirinktoje kohortoje vidutinė EuroSCORE II vertė buvo mažesnė nei 2 %, kuri pagal Krūtinės chirurgų draugijos duomenų bazėje pateiktą visuotinę su širdies chirurgija susijusio mirtingumo riziką buvo įvertinta kaip mažos rizikos (25).

5. Mirštamumo ir ankstyvųjų baigčių po širdies operacijų tikimybė procentais pagal Krūtinės chirurgų draugijos (angl. *Society of Thoracic Surgeons* – STS) skaičiuoklę.

Prieš 3 dešimtmečius STS įkūrė suaugusiųjų širdies chirurgijos pacientų duomenų bazę (ACSD), kurioje yra užregistruota ir nuolat registruojama nuo 90 % iki 95 % visų suaugusiųjų širdies operacijų, atliktų Jungtinėse Amerikos Valstijose. Šiandien tai yra vienas didžiausių klinikinų duomenų registru pasaulyje (298). Iš šiame registre sukauptos informacijos buvo sudaryti ir nuolatos tobulinami rizikos modeliai bei skaičiuoklės, kurios, atsižvelgus į su pacientu susijusius demografinius duomenis, gretutines ligas bei sveikatos būklę prieš operaciją, procedūrines detales ir kitus kliniškai svarbius duomenis, leidžia ne tik prognozuoti galimą mirštamumą procentais, tačiau ir apskaičiuoti tikimybę dažniausiai pasitaikančių nemirtinų baigčių, kurios turi įtakos pooperaciniam sergamumui, išteklių naudojimui bei gyvenimo kokybei po širdies operacijų. Taigi, šalia su operacija susijusio mirštamumo, rizikos modeliai dar apima šešis nemirtinus sergamumo rodiklius ir du galimus hospitalizacijos trukmės parametrus. Iš viso yra apskaičiuojama rizika procentais šių baigčių: su operacija susijęs mirštamumas: mirtis tos pačios hospitalizacijos metu kaip ir operacija arba per 30 dienų po operacijos, neatsižvelgiant į vietą; galvos smegenų kraujotakos sutrikimas pooperaciniu periodu; pooperacinis inkstų funkcijos nepakankamumas: diagnozuojamas remiantis Tarptautinės nefrologų draugijos įkurtos KDIGO (angl. *Kidney Disease Improving Global Outcomes*) organizacijos ūminio inkstų nepakankamumo RIFLE (angl. *Risk, Injury, Failure, Loss, End stage kidney disease*) kriterijais bei naujai atsiradusiu pakaitinės inkstų terapijos poreikiu; ilgalaikės (daugiau nei 24 valandų) dirbtinės plaučių ventilacijos poreikis; gili krūtinkaulio žaizdos infekcija; pakartotinė sternotomija dėl bet kokios priežasties; didelis sergamumas ar mirtingumas: rodiklis, apibrėžiamas kaip bet kurio iš pirmiau išvardytų parametrų pasireiškimas; ilga hospitalizacija po operacijos: hospitalizacijos trukmė daugiau nei 14 dienų (nepriklausomai nuo to, ar ligonis liko gyvas); ir trumpa hospitalizacija: mažiau nei 6 dienos ir pacientas gyvas išrašant. Visos baigtys yra skaičiuojamos hospitalizacijos operacijai metu arba per 30 dienų nuo operacijos, jeigu ligonis buvo išrašytas

iš ligoninės (299, 300). Dėl išsamios duomenų bazės pobūdžio ir didelio STS modelių patikimumo jie yra plačiai naudojami gydytojų klinikistų (širdies chirurgų, kardiologų, anesteziologų-reanimatologų ir kitų specialybių gydytojų) kasdienėje praktikoje numatant paciento galimą riziką bei parenkant optimalų gydymo sprendimą. Skaičiuoklės ir modeliai yra nuolatos peržiūrimi, atnaujinami bei saugomi STS svetainėse ir plačiai prieinami visiems gydytojams (301). VUL SK Širdies chirurgijos centre pagrindinė rizikos nustatymo skalė yra EuroSCORE II, todėl mes savo tyrime taip pat kaip pagrindinę atrankinę skalę naudojome būtent ją. Tačiau, norėdami susidaryti platesnį vaizdą apie ligonius, mes prieš operaciją apskaičiavome ir mirštamumo bei nemirtinų baigčių po širdies operacijos tikimybę procentais.

6. Rūkymas. Remiantis ligonio žodžiais vertinta, ar ligonis rūkė, ar ne.
7. Arterinė hipertenzija. Vertinome, ar ligoniui prieš operaciją buvo diagnozuota pirminė arterinė hipertenzija.
8. Cukrinis diabetas. Nepriklausomai nuo tipo, buvo registruota, ar ligonis prieš operaciją sirgo cukriniu diabetu. Atskirai registruotas cukrinis diabetas, koreguojamas insulinu. Arterinė hipertenzija, cukrinis diabetas bei rūkymas gali turėti didelę įtaką kardiovaskulinių komplikacijų po operacijos išsivystymui (302). Būtent todėl šiuos parametrus vertinome norėdami apibūdinti tiriamųjų kohortą.
9. Lėtinė inkstų liga (LIL), žinoma iš anamnezės. Vertintas lėtinės inkstų ligos faktas, nepriklausomai nuo inkstų pažeidimo etiologijos ir stadijos.
10. Miokardo infarktas, anamnezės duomenimis.

3.1.5. Operacijos duomenys

1. Širdies operacijos su DKA tipas (apeinamųjų jungčių suformavimo operacija (aortokoronarinis šuntavimas – AKŠ), aortos vožtuvo protezavimas (AVP), mitralinio vožtuvo protezavimas (MVP) ar sudėtinės operacijos (AKŠ+AVP, AKŠ+MVP, AVP+MVP);
2. Aortos užspaudimo laikas per operaciją (širdies operacijų metu, pradėjus DKA, prieš pradėdant kardioplegiją distaliau nuo aortos vožtuvo, tačiau proksimaliau nuo arterinės kaniulės yra užspaudžiama aorta tam, kad užtikrintų „ramų“ operacinį lauką, o vožtuvų protezavimo atvejais būtų įmanoma juos pasiekti ir operuoti. Užspaudus aortą, širdis netenka koronarinės kraujotakos ir prasideda miokardo išemijos laikas. Siekiant

apsaugoti miokardą (sumažinti metabolinių procesų aktyvumą bei deguonies poreikį) ligonis pradamas šaldyti ir taikant kardioplegiją sustabdomas širdies elektromechaninis aktyvumas. Aorta atspaudžiama, kai „pagrindiniai darbai širdyje“ yra baigti, tačiau DKA vis dar aprūpina organizmo poreikius. Atspaudimo momentas žymi koronarinės kraujotakos atkūrimą (reperfuziją) ir miokardo elektromechaninio aktyvumo atsiradimą (303). Visi šie procesai lemia miokardo išeminį-reperfuzinį pažeidimą, kuris plačiau aprašytas disertacijos dalies „Literatūros apžvalga“ 2.2 skyriuje „Imuninis atsakas, sukeltas širdies operacijų su DKA“, tačiau nuo miokardo apsaugos ir aortos užspaudimo laiko dažnai priklauso miokardo pažeidimas bei imuninio atsako stiprumas. Dėl šių priežasčių manome, jog tai labai svarbus parametras, į kurį reikia atsižvelgti vertinant ligonio baigtis bei imuninį atsaką po operacijos.

3. Dirbtinės kraujo apytakos (DKA) trukmė. Atliekant širdies operaciją DKA aparatas pavaduoja širdį ir plaučius bei užtikrina adekvačią kraujo dujų apykaitą, deguonies pristatymą ir sisteminę kraujotaką su adekvačia perfuzija. DKA trukmė yra svarbus parametras, vertinant ligonių klininkines baigtis bei imuninį atsaką po operacijos. DKA trukmė – laikas nuo DKA pradžios iki galutinio sustabdymo, kai jau pati širdis užtikrina kraujotaką, adekvačią organizmo poreikiams (303).

4. Operacijos trukmė. Žymimas laikas nuo pjūvio momento iki operacinės žaizdos užsiuvimo pabaigos.

3.1.6. Bendrieji priešoperaciniai laboratoriniai tyrimai

1. Leukocitų bendras skaičius ($\times 10^9/l$);
2. Monocitai ($\times 10^9/l$);
3. Neutrofilai ($\times 10^9/l$);
4. C reaktyviojo baltymo (CRB) koncentracija (mg/l);
5. Hemoglobino koncentracija (g/l);
6. Kreatinino koncentracija (mmol/l);
7. Kreatinino klirensas;
8. Glomerulų filtracijos greitis;
9. Trombocitų kiekis kraujyje ($\times 10^9/l$).

Šių parametų nustatymas ir palyginimas prieš operaciją leidžia susidaryti bendrą vaizdą apie prieš operaciją esančius organizmo homeostazės rodiklius ir būti tikriems, jog į tyrimą įtraukti pacientai tikrai neturėjo subklinikinės infekcijos, nediagnozuotos lėtinės inkstų ligos ar kitų būklių, kurios būtų galėjusios iškreipti pooperacinius rezultatus. Visi šie parametrai buvo stebimi ir per visą hospitalizacijos laiką, vertinant tiek homeostazės pokyčius, tiek klinikinės baigtis.

3.1.7. Imunologinės būklės vertinimas

Ląstelinio imuninio atsako vertinimas:

1. T limfocitų: CD3, CD4 ir CD8 skaičiaus vertinimas;
2. CD4/CD8 santykio skaičiavimas;
3. T limfocitų aktyvacijos vertinimas, nustatant CD69 žymenį ant T limfocitų membranos (CD4CD69 ir CD8CD69).

Kaip aprašyta 2.1 skyriuje „Imuninis atsakas į antigeną“, ląstelinio imuniteto pokyčiai lemia nepageidaujamas baigtis po didelės apimties operacijų ir gali išlikti netgi iki 12 savaičių (224). Todėl mūsų studijos vienas iš tikslų buvo įvertinti imunomitybos įtaką ląsteliniam imunitetui po širdies operacijų. CD4+ (T limfocitai pagalbininkai) ir CD8+ (citotoksiniai limfocitai) yra pagrindinės ląstelės, dalyvaujančios ląstelinio imuninio atsako formavimesi. Kliniškai bei fiziologiškai yra svarbūs jų absoliutūs skaičiai bei tarpusavio santykis (304). Siekdami išsiaiškinti, ar imunomityba su glutaminu turi įtakos tik ląstelių skaičiaus (arba santykio) pasikeitimui, ar galbūt ir T limfocitų aktyvacijai, T limfocitai buvo aktyvinti *in vitro* ir vertintas ankstyvasis T limfocitų aktyvacijos žymuo CD69 tiek ant CD4+, tiek ant CD8+ T limfocitų membranos. Tyrimai su gyvūnais ir žmonėmis rodo (146), jog visos efektorinės T ląstelės savo membranos paviršiuje turi šį žymenį, todėl jis ir buvo pasirinktas kaip T limfocitų aktyvacijos žymuo. Be to, dėl ypač ankstyvos jo ekspresijos ant ląstelės membranos tai buvo įmanoma tiksliai įvertinti *in vitro*. Plačiau atlikimo metodika yra aprašyta 3.3 skyriuje „Imuninės sistemos vertinimas“.

Sisteminio uždegiminio atsako žymenys:

- 1) navikų nekrozės faktorius α (TNF- α);
- 2) interleukinas 6 (IL-6);

3) interleukinas 10 (IL-10);

4) prokalcitoninas.

Tirdami imunomitybos įtaką nespecifinio imuninio atsako formavimuisi ir eigai, mes norėjome iširti tiek uždegimą skatinančią, tiek jį slopinančią fazę žyminčius mediatorius ir palyginti tarp IM ir K grupių. TNF- α , IL-1 ir IL-6 yra pagrindiniai uždegimą skatinantys nespecifinio imuniteto (sisteminio uždegiminio atsako) mediatoriai, o IL-10 – pagrindinis uždegimą slopinantis mediatorius (40). Prokalcitoniną mes pasirinkome kaip bakterinės infekcijos žymenį, siekdami išsiaiškinti, ar tikėtini imuninių ląstelių ar mediatorių pokyčiai 6-ą parą po operacijos nėra sukelti subklinikinės bakterinės infekcijos. Apie prokalcitonino, kaip bakterinės infekcijos žymens, jautrumą ir specifiškumą plačiau rašyta 2.1 skyriuje „Imuninis atsakas į antigeną“. Pati sisteminio uždegiminio atsako žymenų įvertinimo metodika pateikta 3.3 skyriuje „Imuninės sistemos vertinimas“.

Visi šie pasirinkti imuninės būklės vertinimo parametrai buvo nustatyti prieš operaciją (operacijos dieną ryte arba dieną prieš operaciją) ir 6-ą parą po operacijos IM grupę maitinus imunomitybos mišiniu su glutaminu ir antioksidantais penkias paras po operacijos. Parametrai lyginti tarpusavyje kaip poriniai dydžiai bei palyginti tarp grupių, naudojant vidurkius arba medianas.

3.1.8. Bioelektrinio impedanso analizės metodas ir fazės kampo interpretacija

Visi ligoniai prieš įtraukiant į tyrimą buvo įvertinti bioelektrinio impedanso (BIA) metodu, kaip atrankinį dydį pasirenkant fazės kampą (FK) prie 50 Hz. Tai visuotinai priimtas sveikatos ir ląstelių gyvybingumo žymuo, rodantis ląstelių masę, membranos vientisumą ir hidratacijos būklę (252, 305, 306). Pacientai, turintys mažą FK, pasižymi trapumu, nepakankamu ląstelių gyvybingumu ir yra nepakankamos mitybos (307).

Bioelektrinis impedansas (BIA) – tai neintervencinis tyrimo būdas, kuriuo galima nustatyti kūno sudėtį (riebalų, raumeninę, ne raumeninę kūno masę, ląstelinio ir neląstelinio vandens kiekį), tuo įvertinant ir ląstelių sveikatą. Šis tyrimo metodas pagrįstas skirtingo dažnio elektros srovės sugebėjimu sklusti per audinius skirtingais keliais: mažo dažnio elektros srovė sklinda tik neląstelinio tarpu, o aukšto dažnio gali sklusti ir per ląsteles. Abiem būdais sklisdama elektros srovė sukuria skirtingas varžas, kuriomis remiantis nustatoma kūno sudėtis, nes skirtingu dažniu ir įtampa veikiama elektros srovė

turi skirtingą audinių pralaidumą. Varža susideda iš dviejų komponentų – varžos (atspindi kintamosios srovės srautą per vidinius ir tarpląstelinius tirpalus) ir reaktyvumo (atspindi ląstelių membranos talpą). Fazės kampas yra reaktyvumo ir varžos santykis (308).

Fazės kampas – tai ląstelėmis ir neląsteliniu tarpu sklindančios elektros srovės sukurtos varžos santykis, išreikštas laipsniais. Jis yra paskaičiuojamas sklindant vidutinio dažnio (50 kHz) elektros srovei tiek neląsteliniu tarpu, tiek ląstelėmis. Fazės kampas, kurį suteikia bioelektrinė varža, atspindi ląstelių membranos talpos (reaktyvumo) ir audinyje esančio vandens kiekio (atsparumo) santykį (252, 309). Šis santykis buvo laikomas visuotinai priimtiniu sveikatos ir ląstelių gyvybingumo žymeniu (252, 305). Be to, FK gali būti naudojamas kaip mitybos būklės įvertinimo įrankis bei prastos mitybos rodiklis (310). Keli tyrimai parodė, kad mažas FK yra susijęs su trapumu (angl. *frailty*, *fragile*) ir prognozuoja didesnę mirštamumą, sergamumą ir buvimo ligoninėje trukmę po didelių širdies operacijų (310, 311). Kadangi nėra patvirtintos fazės kampo vertės, žyminčios normą ar sutrikimą kardi chirurginiams pacientams, mes naudojome etalonines vertes, pateiktas A. Westphal ir kolegų atliktame populiaciniame tyrime, kuriame jie bandė nustatyti BIA FK normalias reikšmes pagal amžių, rasę ir kūno masės indeksą. Dauguma VUL Santaros klinikų Širdies chirurgijos centro pacientų yra baltųjų rasės, nuo 60 iki 75 metų amžiaus ir jų KMI vertė yra 25–30 kg/m². Remdamiesi šiuo tyrimu mes apskaičiavome normalią vidutinę fazės kampo vertę 5,57° (26). M. Visser ir kolegų atliktame kardi chirurginių ligonių tyrime nustatyta, jog FK vertė, mažesnė nei 5,38°, yra susijusi su nepakankama mityba ir nepageidaujama klinikiniais rezultatais po širdies operacijos (252). Todėl remdamiesi šiais duomenimis pasirinkome tiriamiesiems BIA FK reikšmę 5,5, esant 50 Hz srovės dažniui, ir ją nustatėme kaip ribinę vertę.

Tyrimo dalyvavo suaugę pacientai, turintys mažą fazės kampą (FK <5,5), kurią pasirinkome kaip sumažėjusio ląstelių gyvybingumo ir trapumo rodiklį.

3.1.8.1. Tyrimo metodikos aprašymas

BIA analizė buvo atlikta su „InBody S10“ (Seulas, Pietų Korėja) įrenginiu pagal ESPEN BIA taikymo gaires ir kitas gamintojo ir ESPEN rekomendacijas (312). Taigi prieš atliekant BIA tyrimą tiriamiesiems buvo pamatuojami ūgis ir svoris. Prieš pat BIA analizę tyrimo dalyviai turėjo pagulėti ramiai ant nugaros 10 minučių. Pačios analizės metu pacientui gulint ant nugaros, rankos buvo nuo kūno atitrauktos 15° kampu, o kojos praskėtos

pečių plotyje. Analizė atlikta naudojant aštuonis elektrodus, uždėtus ant abiejų rankų (ant nykščio ir vidurinio piršto) bei tarp paciento kulkšnies ir kulnų.

Gauti duomenys pažymėti duomenų rinkimo žurnale ir perrašyti į elektroninę duomenų bazę.

3.2. Tiriamosios grupės ir imunomityba

Tiriamieji suskirstyti į dvi grupes: imunomitybos ir kontrolinę. Imunomitybos grupės pacientams penkias dienas po operacijos, pradedant nuo pirmos pooperacinės dienos ryto, prie įprastinio maitinimo buvo skirtas specialus imunomišinio produktas. Vieno pakelio sudėtis (22,4 g): glutamino 10 g, vitamino C 250 mg, vitamino E 83 mg, beta karoteno 1,6 mg, seleno 50 µg, cinko 3 mg, skaidulinių medžiagų 1 g. Imunomitybos mišinys, kurio suminė dienos dozė buvo 67,3 g (30 g glutamino), skirtas tris kartus per dieną. Kontrolinei grupei skirtas tik įprastinis maitinimas.

Tiriamieji buvo kasdien lankomi prieš kiekvieną sugeriamą dozę. Pacientai, kurie dėl vienokių ar kitokių priežasčių (nurodyta rezultatų skiltyje) nutraukė imunomišinio vartojimą, buvo pašalinti iš tyrimo. Į tyrimą įtraukti tik tie tiriamieji, kurie suvartojo visą imunomišinio kursą.

Mūsų naudotame imunomišinyje pagrindinis komponentas yra glutaminas.

Glutaminas – tai viena iš dvidešimties aminorūgščių, dalyvaujančių baltymų sintezėje. Ši aminorūgštis yra labai svarbi homeostazei palaikyti, o imuninės sistemos ląstelės ją vartoja kaip energijos šaltinį. Atlikti tyrimai rodo, kad jo skyrimas esant infekcijos ar traumos sukeltoms uždegiminėms būklėms veikia teigiamai – stimuliuoja imunines ląsteles (313). Ląstelėms dalijantis vyksta naujų nukleotidų sintezė, kurioje kaip pagrindinis prekursorius dalyvauja glutaminas. Jis skatina limfocitų proliferaciją, citokinų produkciją, makrofagų fagocitinę funkciją, taip prisidedamas prie geresnių ligonų išiečių (277, 278, 314). Taip pat nustatyta, kad dėl stresinių būklių daugelis ląstelių kaip energijos šaltinį dažniau naudoja glutaminą nei gliukozę (268). Yra ir kontroversiškų nuomonių apie glutamino naudą. Wernerman ir bendraautorų atliktoje studijoje teigiama, kad glutamino skyrimas kritinių būklių pacientams nėra susijęs su geresnėmis baigtimis (315). Pastaruosius 10–15 metų glutaminas tiriamas pakankamai intensyviai, tačiau matoma, kad reikalingos tolesnės studijos glutamino naudai įrodyti.

Mažesniais kiekiais mišinyje yra vitaminas C, vitaminas E, beta karotenas, selenas, cinkas ir skaidulinės medžiagos. Tai vitaminų ir mikroelementų

kompleksas, kuris, be svarbių medžiagų apykaitos funkcijų, reikalingas ir normaliai ląstelių funkcijai palaikyti, ypač atsižauant organizmui po didelės apimties operacijų (316, 317). Tyrimų duomenimis, vitaminai A, E ir beta karotenai yra labai svarbūs palaikant homeostazę ir reguliuojant imuninį atsaką, jų vartojimas yra susijęs su didesniu atsparumu bakterinėms infekcijoms (318, 319). Mikroelementai (selenas, cinkas) taip pat yra nepakeičiami reguliuojant imuninę sistemą. Selenas yra reikalingas tiek įgimto, tiek įgyto imuninio atsako aktyvinimuisi (319). Jis palaiko ląstelės membranos vientisumą, taip apsaugodamas nuo pažeidimo jos DNR. Jis padeda išvengti hiperaktyvacijos, dėl kurios išsivysto gili immunosupresija. Ypač efektyvus mažinant oksidacinio streso sukeltą pažeidimą. Cinkas yra labai svarbus ląstelių bei audinių regeneracijai, nes tiesiogiai dalyvauja DNR ir RNR sintezėje. Visi šie vitaminai ir mikroelementai yra kartu ir stiprūs antioksidantai. Be teigiamo poveikio imuninės sistemos ląstelėms, jie mažina oksidacinio streso sukeltus pažeidimus bei tiesiogiai dalyvauja regeneracijos procesuose (319).

3.3. Imuninės sistemos vertinimas

Imuninė pacientų būklė buvo testuojama du kartus. Pirmas kraujo mėginys imtas vieną dieną prieš operaciją arba operacijos dieną iš ryto prieš operaciją, antras – šeštą pooperacinę dieną (prieš tai IM grupei 5 paras mityba buvo papildoma imunomišiniu).

Siekiant išsiaiškinti, kokį poveikį imuniniam atsakui turi imunomityba po didelės apimties širdies operacijų mažos operacinės rizikos, tačiau trapiems ligoniams, buvo vertinamos T limfocitų subpopuliacinių ląstelių koncentracijos (CD3+, CD4+, CD8+), ankstyvasis jų aktyvumo žymuo CD69 bei nespecifinio imuniteto – sisteminio uždegiminio atsako žymenys: IL-6, IL-10, TNF- α bei prokalcionino ir CRB koncentracijos kraujyje.

3.3.1. CD3+ ir subpopuliacijų CD4+, CD8+ įvertinimas

CD3+ (subrendusių T ląstelių) ir T ląstelių subpopuliacijų (CD4 +, T pagalbinių ląstelių ir CD8+, T citotoksinių ląstelių) srauto citometriniškai skaičiavimas buvo atliktas „FACSCalibur“ (BD Biosciences, San Chosė, CA, JAV). Absoliutus limfocitų skaičius buvo nustatytas kaip baltųjų kraujo kūnelių skaičiaus ir limfocitų diferenciacijos procento sandauga, matuojama „Sysmex 5000i“ (Kobe, Japonija) hematologiniu analizatoriumi. Srauto citometriškai periferinio kraujo mėginiai buvo nudažyti monokloniniais

antikūnais prieš paviršiaus žymenis CD3, CD4 ir CD8 (BD Biosciences, San Chosé, CA, JAV). Po 30 minučių inkubacijos tamsoje kambario temperatūroje raudonieji kraujo kūneliai buvo lizuojami naudojant FACS lizuojantį tirpalą ir plaunami fosfato buferiusu fiziologiniu tirpalu. Po fiksavimo žingsnio srauto citometre buvo gauti pažymėti limfocitai, tinkamai sureguliuvus prietaisą, sukalibravus ir kompensavus. Analizės regionai buvo vartojami CD14 / CD45 antikūnų deriniu, izotipo kontrolė 1 / 2, kuri buvo naudojama neigiamiems žymenims nustatyti. Absoliutus limfocitų pogrupių skaičius buvo apskaičiuotas naudojant absoliučius limfocitų kiekius, gautus hematologiniu analizatoriumi: kiekvienos ląstelės pogrupio absoliutūs skaičiai buvo apskaičiuoti padauginus specifinius pogrupio procentus iki absoliutaus limfocitų skaičiaus ir padalijus iš 100.

3.3.2. T ląstelių aktyvacijos įvertinimas

Periferinio kraujo vienbranduolės ląstelės (PBMC) buvo izoliuotos steriliomis sąlygomis, naudojant tankio gradiento centrifugavimą per limfocitų izoliacijos suspensiją (LymphoprepTM, Axies-Shield Poc AS, Norvegija). Po plovimo PBMC buvo suspenduotos RPMI 1640 terpėje (RPMI 1640 Medium, HyClone Laboratories, JAV) su 20 % naujagimio veršelio serumu (Life Technologies, JAV), papildytu penicilino-streptomicino tirpalu (Biological Industries, Izraelis), ir pasėtos į 10 cm² paviršiaus aktyvinto augimo ploto TPP audinių kultūros mėgintuvėlius (TPP Techno Plastic Products AG, Šveicarija) fitohemagliutinino (PHA-P, Sigma-Aldrich) stimuliacijos tyrimams (PHA koncentracija 10 µg/ml). Mėginiai buvo kultivuojami 37 °C temperatūroje drėkintame 5 % CO₂ ląstelių kultūros inkubatoriuje. Po 18 valandų inkubacijos mėginiai buvo nudažyti, naudojant monokloninius antikūnus CD3PerCP / CD14PE / CD45FITC, CD3PerCP / E1PE / □2aFITC, CD3PerCP / CD4PE / CD69FITC ir CD3PerCP / CD8PE / CD8PE / CD8, CA, JAV). Antigeno ekspresija buvo analizuojama naudojant „FACSCalibur“ srauto citometrą (BD, JAV) su „CellQuestPro“ analizės programine įranga (BD Biosciences, San Chosé, CA, JAV). Ląstelės buvo nuosekliai vartomos limfocituose (remiantis šoninio sklaidos (SSC) ir CD3PerCP taškų diagrama), po to buvo nustatyti aktyvacijos žymens CD69+ procentai CD4 + ir CD8 + pogrupiuose.

3.3.3. Sisteminio uždegiminio atsako žymenys

Po atšildymo visi serumo mėginiai buvo tiriami vienu metu. Kalcitonino prokalcitonino (PCT) prohormonas buvo matuojamas „ADVIA Centaur XP“

atsitiktinės prieigos analizatoriumi („Siemens Healthcare Diagnostics“), naudojant ADVIA Centaur® BRAHMS procalcitonino (PCT) tyrimą (tyrimas yra „dviejų vietų sumuštinių“ imunologinis tyrimas, naudojant tiesioginę chemiliuminescencinę technologiją su trimis pelės antikūniais, specifiniais kurioje naudojama trys pelės monokloniniai antikūnai PCT. Tiesioginis ryšys sieja paciento mėginyje esančio PCT kiekį ir sistemos aptiktų santykinų šviesos vienetų (RLU) skaičių). Kiekybiniai naviko nekrozės faktoriaus α (TNF- α), interleukino 6 (IL-6) ir interleukino 10 (IL-10) matavimai buvo atlikti IMMULITE 1000 atsitiktinės prieigos imuninio tyrimo sistemoje, naudojant TNF- α , IL6 ir IL-10 testų rinkinius (visa „Siemens Healthcare Diagnostics“) ir kietosios fazės, chemiliuminescencinė imunometrinė analizė.

3.4. Klinikinių baigčių vertinimas

3.4.1. Ankstyvosios baigtys

Siekiant nustatyti imunomitybos glutamino ir antioksidantų pagrindu poveikį ligonių klinikinėms baigtims, buvo analizuojami ligonių pooperacinės būklės pokyčiai per visą hospitalizacijos laiką. Ankstyvųjų klinikinių baigčių analizei buvo pasirinkta Krūtinės chirurgų draugijos (STS) pasiūlytų dažniausių klinikinių baigčių po širdies operacijų analizė, remiantis paskutiniu 2018 m. atnaujinimu (320). Visos baigtys buvo vertintos praėjus 30 dienų po operacijos arba tos pačios kaip ir operacija hospitalizacijos metu, jeigu ji trunka ilgiau nei 30 dienų. Buvo analizuota:

1. Mirštamumas.
2. Pooperacinis inkstų funkcijos nepakankamumas. Ši klinikinė baigtis diagnozuojama remiantis Tarptautinės nefrologų draugijos įkurtos KDIGO organizacijos ūminio inkstų pažeidimo (ŪIP) RIFLE kriterijais bei naujai atsiradusiu pakaitinės inkstų terapijos poreikiu. RIFLE kriterijai – ūminio inkstų pažeidimo klasifikacija, pasiūlyta 2004 m. KDIGO ir naudojama ūminio inkstų funkcijos nepakankamumo (ŪIFN) diagnostikai iki šiol. RIFLE – tai akronimas, žymintis penkias ŪIP klases: riziką (angl. *Risk*), pažeidimą (angl. *Injury*), nepakankamumą (angl. *Failure*) bei dvi galimas baigtis: funkcijos netekimą (angl. *Loss*) ir galutinės stadijos (negrįžtamą) inkstų ligą (angl. *End stage kidney disease*) (321). Pagal STS kriterijus į šią skiltį turėtų patekti ligoniai, kurie atitinka nepakankamumo (angl. *Failure*) kriterijus.

3. Išeminis galvos smegenų infarktas po operacijos. Apibūdinamas kaip centrinės kilmės neurologinis deficitas, kuris išlieka ilgiau nei 72 valandas.
4. Prailginta dirbtinė plaučių ventiliacija (DPV). Apibūdinama kaip DPV poreikis, išliekantis ilgiau nei 24 val. po operacijos.
5. Gili krūtinkaulio žaizdos infekcija. Tai per 30 dienų po operacijos atsiradusi gili krūtinkaulio žaizdos infekcija, apimanti raumenis, kaulus ir (arba) tarpuplautį, ir jai gydyti reikalinga chirurginė intervencija. Turi būti šios sąlygos:
 - žaizda tokia, kad reikia atverti minkštuosius audinius arba tarpuplautį;
 - žaizdos pasėlyje turi augti gramteigiamos bakterijos, išskyrus tuos atvejus, kai ligonis tikslingai gydomas antibiotikais ir žaizdos pasėlyje nėra bakterijų augimo;
 - ligonis turi gauti antibakterinį gydymą pasibaigus perioperacinei profilaktikai.
6. Resternotomija. Pakartotinis krūtinkaulio ir operacinės žaizdos atvėrimas dėl kraujavimo iš tarpuplaučio, lydymas ar nelydimas širdies tamponados, šunto okliuzijos, vožtuvų veiklos sutrikimo ar kitos ūminės kardiologinės būklės.
7. Trumpa hospitalizacija (<6 parų).
8. Ilga hospitalizacija (>14 parų).

Siekdami susidaryti platesnį vaizdą, kokią įtaką imunomityba gali turėti šių ligonių sveikimui ir pooperacinei eigai, įtraukėme daugiau kriterijų į pooperacinių baigčių vertinimą. Buvo skaičiuota ir lyginta tarp grupių:

- 1) bendra gydymo Reanimacijos ir intensyviosios terapijos skyriuje (RITS) trukmė;
- 2) kraujo produktų naudojimas;
- 3) infekcijų dažnis hospitalizacijos metu. Buvo analizuotas bendras skaičius, lyginta tarp grupių. Taip pat analizuotas kiekvienas atvejis atskirai: infekcijos šaltinis, sukėlėjas;
- 4) inkstų pažeidimas. STS pasiūlyti kriterijai leidžia įtraukti tik tuos ligonius, kuriems išsivystė ŪIFN. Tačiau daugybėje studijų buvo pastebėta, jog net ir nedaug pablogėjusi inkstų funkcija gali turėti didelį poveikį ligonio tolesniam sergamumui ir gyvenimo kokybei. Būtent todėl 2004 m. Ūminės dializės kokybės iniciatyvinė grupė (angl. *Acute Dialysis Quality Initiative* – ADQI) pasiūlė RIFLE klasifikaciją, apibūdinančią skirtingus ŪIP laipsnius, ne tik ŪIFN. Ši

klasifikacija grindžiama serumo kreatinino padaugėjimu arba glomerulų filtracijos greičio (GFG) sumažėjimu ir išskiriamo šlapimo kiekiu:

- rizika: 1,5 karto padidėjusi serumo kreatinino koncentracija arba 25 % sumažėjęs GFG, arba diurezė $< 0,5$ ml/kg/val. 6 val.;
- pažeidimas: 2 kartus padidėjusi serumo kreatinino koncentracija arba 50 % sumažėjęs GFG, arba diurezė $< 0,5$ ml/kg/val. 12 val.;
- nepakankamumas: 3 kartus padidėjusi serumo kreatinino koncentracija, arba 75 % sumažėjęs GFG, arba diurezė $< 0,3$ ml/kg/val. 24 val., arba anurija 12 val.;
- inkstų funkcijos netekimas: visiškas inkstų funkcijos netekimas, besitęsiantis >4 sav.;
- galutinės stadijos inkstų liga: galutinės stadijos inkstų liga, besitęsianti >3 mėn. (321).

Kaip ir rekomenduoja STS registrai, visiems ligoniams hospitalizacijos metu buvo stebima kreatinino koncentracija bei išvestiniai parametrai – kreatinino klirensas (KK) bei GFG. Ligonius išanalizavome pagal RIFLE klasifikaciją ir suskirstėme, kiek kokios grupės ligonių pateko į rizikos ar pažeidimo grupę pooperaciniu laikotarpiu, bei palyginome, kiek jų buvo maitintų ir nemaitintų ligonių grupėse;

- 5) pakartotinis perkėlimas į RITS hospitalizacijos metu;
- 6) hospitalizacijos trukmė po operacijos.

3.4.2. Vėlyvosios baigtys

Savo studijoje norėjome įvertinti ir vėlyvasias baigtis po širdies operacijų, kai pooperaciniu laikotarpiu buvo taikoma imunomityba.

Vertinome:

- 1) vienerių metų mirštamumą po operacijos;
- 2) pakartotinių hospitalizacijų skaičių per metus po operacijos.

3.5. Statistinė analizė

Pradėję tyrimą pirmiausia išsiaiškinome, koks reikalingas imties dydis, kad gautume patikimus rezultatus. Imties dydis buvo nustatytas remiantis turimais klinikiniais duomenimis ir praktika. Jam apskaičiuoti naudota formulė:

$$N = (z_{1-\alpha/2} s_d / \bar{d})^2, \alpha = 0,05, z_{1-\alpha/2} = 1,96,$$

kur \bar{d} – matavimų vidurkio skirtumas ir s_d – standartinis skirtumų nuokrypis (kiekybiniams kintamiesiems).

Tam, kad būtume tikri, jog duomenis galima vertinti, kiekvienas kintamasis buvo tiriamas atskirai. Pagal formulę, imties dydis turėtų būti mažiausiai 12 pacientų kiekvienoje grupėje.

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant duomenų kaupimo ir analizės programos paketą „SPSS 20.0“ (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Tiriamųjų grupės buvo sudarytos pasitelkus kompiuterinį atsitiktinės atrankos procesą. Kiekvienam į studiją įtrauktam pacientui buvo suteiktas identifikacinis numeris ir šiuo numeriu jis buvo registruotas nuasmenintų duomenų žurnale, kurio pagrindu buvo sukurta elektroninė duomenų bazė. Šioje bazėje buvo registruojami visi paciento duomenys – tiek pradiniai, tiek susiję su tyrimo eiga bei išvados. Jeigu ligonis buvo pašalintas iš tyrimo, registruojama šalinimo priežastis.

Randomizacijos sėkmė buvo patikrinta palyginus intervencijos (imunomitybos (IM)) ir kontrolinės (K) grupių demografinių rodiklių, gretutinių ligų ir laboratorinių tyrimų rezultatus, įskaitant imunologinius tyrimus prieš operaciją. Pradiniams duomenims sisteminti ir pateikti buvo naudota rodiklių aprašomoji statistika: vertinti vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai, medianos ir trečio bei pirmo kvartilų skirtumas, minimali ir maksimali reikšmės, duomenų pasiskirstymas ir išsibarstymas.

Kiekybinių duomenų pasiskirstymo normalumui patikrinti naudotas Kolmogorovo ir Smirnov testas bei vertinta histograma. Normaliai pasiskirsčiusių duomenų vidurkiams palyginti naudotas Stjudento t kriterijus nepriklausomoms imtims. Tačiau nemažai rodiklių buvo nepasiskirsčiusių pagal normalųjį dėsnį, todėl jiems buvo naudoti neparimetriniai testai. Šie rodikliai buvo sisteminti apskaičiuojant medianas ir trečios bei pirmos kvartilų skirtumus, o palyginimui tarp grupių naudotas Mano, Vitnio ir Vilkoksono kriterijus (angl. *Mann–Whitney–Wilcoxon test*). Kokybiniai duomenys buvo pateikti dažniu ir procentais (n (%)). Duomenų skirstiniai buvo palyginti Chi kvadrato (χ^2) (angl. *Pearson chi-square*) ir Fišerio tiksluoju testu (angl. *Fisher exact test*).

Ryšius tarp kintamųjų nustatėme skaičiuodami Pirsono koreliacijos koeficientą skaitiniams kintamiesiems ir Spirmeno koreliacijos koeficientą kategoriniams kintamiesiems.

Tiesiniam ryšiui tarp duomenų nustatyti buvo naudotas Pirsono koreliacijos koeficientas. Imunomitybos ir T ląstelių skaičiaus padidėjimo sąsajai rasti buvo sudarytas tiesinės regresijos modelis. Apskaičiuotos pagrindinės modelio charakteristikos ir įvertinta modelio atitiktis realiems duomenims – apskaičiuotas determinacijos koeficientas, įvertintas modelio koeficientų reikšmingumas ir patikrintas paklaidų normalumas.

Atskirų rodiklių priklausomybei apibrėžti ir analizuojamiems rodikliams prognozuoti buvo taikytas logistinės regresijos metodas. Logistinės regresijos modelis laikytas tinkamu, jei χ^2 ir Valdo kriterijaus (angl. *Wald criterion*) p-reikšmė buvo mažesnė nei 0,05. Pasitelkiant logistinį modelį skaičiuotas galimybių santykis OR (angl. *Odds Ratio*), kuris parodo, kaip kinta Y galimybė įgyti reikšmę 1.

Vienerių metų išgyvenamumui vertinti buvo sudarytas Kokso proporcingos rizikos (angl. *proportional hazard*) modelis.

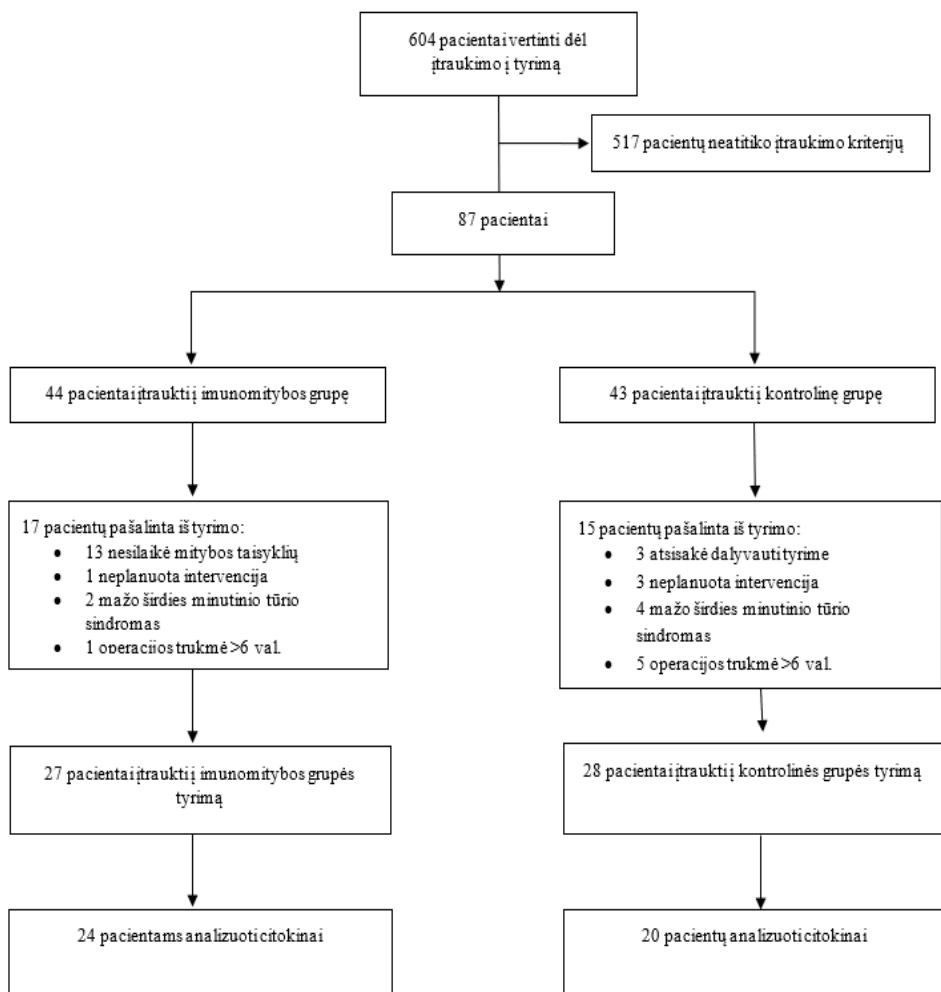
Visame darbe statistinis reikšmingumo lygmuo buvo $\alpha = 0,05$.

4.TYRIMO REZULTATAI

4.1. Tiriamųjų atranka

Tyrimo dalyviai - pacientai, kuriems buvo suplanuota širdies operacija su DKA. Atitikę pirminius priešoperacinius įtraukimo kriterijus bei pasirašę sutikimo dalyvauti tyrime formą ligoniai buvo įtraukti į tyrimą. Svarbu paminėti tai, jog pacientai, kuriems operacija buvo atliekama pirmadieniais ir penktadieniais, į tyrimą buvo neįtraukti dėl Imunologinės laboratorijos darbo grafiko (nebuvo galimybės savaitgalį atlikti laboratorinių tyrimų). Dėl galimybės įtraukti į tyrimą iš viso buvo vertinti 604 pacientai. Didžioji dalis pacientų, 517 (85,6 %), buvo neįtraukti į tyrimą dėl didelės fazės kampo (FK) reikšmės (FK >5,5°). Taigi po atrankos proceso tiriamųjų kohortą sudarė 87 ligoniai. Šie pacientai atsitiktine tvarka (randomizacija) ir išlaikant proporcingą pasiskirstymą buvo įtraukti į intervencijos (imunomitybos (IM)) arba kontrolinę (K) grupę. Keturiasdešimt keturi (44) pacientai įtraukti į IM grupę, 43 – į K grupę. Dėl operacinių ir pooperacinių atmetimo kriterijų po operacijos iš tyrimo buvo pašalinti 32 (36,8 %) pacientai (17 iš IM ir 15 iš K grupės). IM grupėje dažniausia pašalinimo iš tyrimo priežastis buvo mitybos taisyklių nesilaikymas (neišgerdavo reikiamo kiekio, neišlaikydavo laiko intervalų ar išvis atsisakydavo gerti imunomišinių), tai sudarė net 13 (76,5 %) tiriamųjų. K grupėje dažniausia tiriamųjų pašalinimo priežastis buvo operacijos trukmė >6 val., ir tai atsitiko 5 (33,3 %) pacientams. Taigi galutinai į tyrimą buvo įtraukti 55 pacientai (27 – IM, 28 – K grupės). Svarbu paminėti, jog dėl finansinių priežasčių tiriamiesiems iš pradžių buvo analizuojami tik ląstelinio imuniteto žymenys (T ląstelės bei jų aktyvaciją žymintis CD69), o citokinams analizuoti reikalinga plazma buvo pristatyta į imunologijos laboratoriją ir užšaldyta taikant specialią metodiką. Citokinių koncentracijos tyrimai buvo atlikti vėliau, pagal specialią metodiką atšildžius ligonių plazmą. Dėl techninių nesklaidumų (laboratoriniams tyrimams reikalingos šaldytos plazmos trūkumo ar netinkamos kokybės atšildžius) ir dėl to neatliktų tyrimų papildomai pašalinta 11 (20 %) tiriamųjų.

Šiame tyrimo etape nagrinėti 44 pacientai (24 – IM, 20 – K grupės). Tiriamosios grupės pacientų atranka vaizduojama 1 paveiksle.

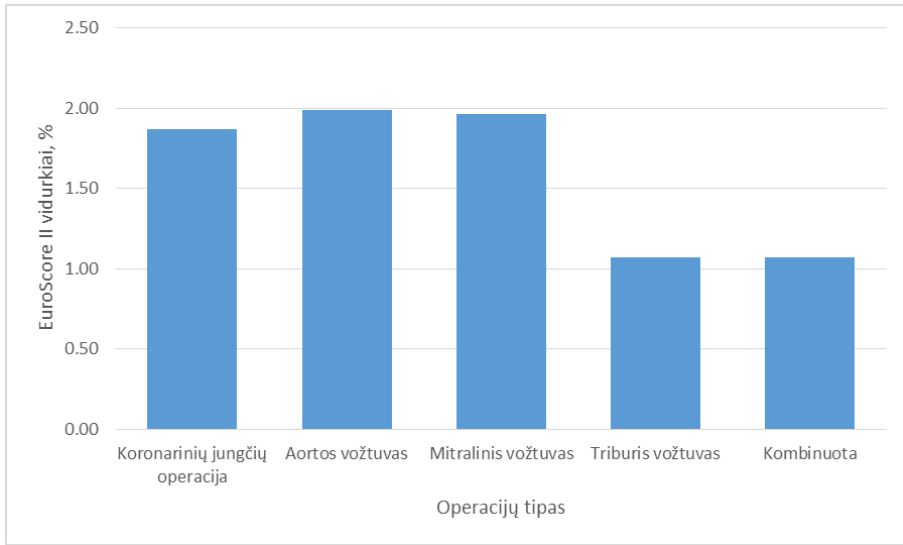


1 paveikslas. Tiriamųjų atrankos schema

4.1.1. Tiriamųjų apžvalga pagal rizikos skales

Į tyrimą įtrauktų pacientų EuroSCORE II vidurkis buvo $1,99 \pm 0,83$ %. Remiantis krūtinės chirurgų draugijos (angl. *Society of Thoracic Surgeons* – STS) duomenų bazėje pateikta visuotine su širdies chirurgija susijusia mirtingumo rizika, visa tiriamųjų grupė buvo vertinama kaip mažos operacinės rizikos, kadangi EuroSCORE II vidurkis buvo mažesnis nei duomenų bazėje pateiktas vidurkis (233). Ši skaičiuoklė buvo sukurta remiantis 154 ligoninių iš 43 skirtingų šalių 2010 m. sukauptais kardiochirurginių operacijų duomenimis. Mirštamumo vidurkiai buvo skaičiuoti iš daugiau kaip 20 000 atvejų. Lyginant ankstesnę EuroSCORE

skaičiuoklę gauta, kad dabar pacientai yra vyresni ir turi daugiau gretutinių ligų, tačiau jų mirštamumas po operacijų yra mažesnis (15). Remiantis šia duomenų baze, bendrai vertinant planines širdies operacijas, pacientai, kuriems EuroSCORE II vidurkis $<2\%$, yra priskiriami mažos operacinės rizikos grupei. Kaip mirštamumo rizika buvo pasiskirsčiusi pagal operacijos tipus, vaizduojama 2 paveiksle.



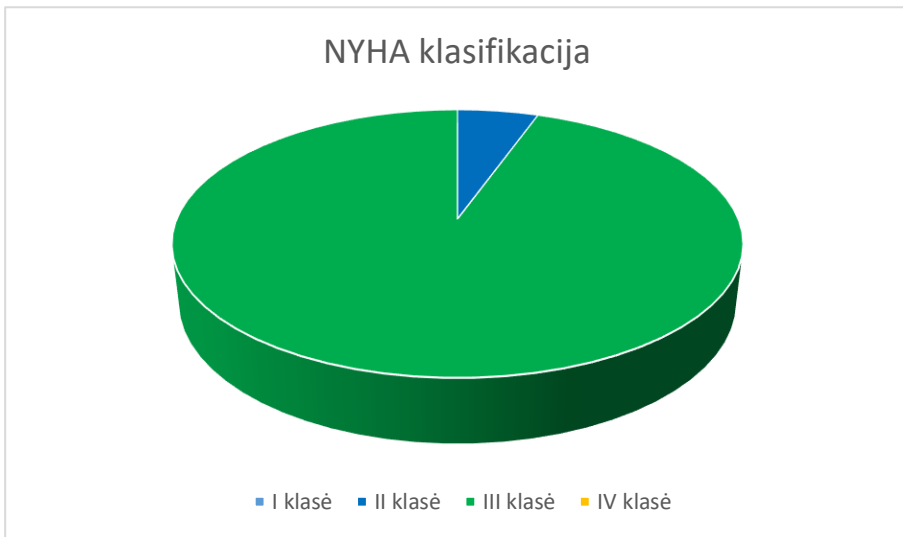
2 paveikslas. Pacientų pasiskirstymas pagal operacinę riziką, vertintą EuroSCORE II skaičiuokle

Pacientų fizinė būklė vertinta naudojant Amerikos anesteziologų draugijos (angl. *The American Society of Anesthesiologists* – ASA) fizinės būklės klasifikavimo sistemą, pagal kurią visi tirti pacientai priklausė III ASA klasei – tai pacientai, turintys sunkių sisteminių ligų, kurios sukelia funkcijos apribojimus. Pagal šią klasifikaciją dar yra išskiriama I ASA klasė – sveiki pacientai; II ASA klasė – sergantys nesunkia sisteminė liga, kuri nesukelia jokių funkcijos apribojimų; IV ASA klasė – sergantys sunkia, nuolat keliančia grėsmę gyvybei sisteminė liga; V ASA klasė – mirštantis pacientas, kai nesitikima, kad jis išgyvens nepriklausomai nuo to, ar bus operuotas; VI ASA klasė – pacientas, kuriam konstatuota smegenų mirtis ir imami organai transplantacijai; E – atliekama skubi operacija, „E“ pridedama prie klasifikacijos numerio.

Buvo atliktas tiriamųjų lėtinio širdies nepakankamumo sunkumo vertinimas naudojant Niujorko širdies asociacijos (angl. *New York Heart Association Classification* – NYHA) sukurtą lėtinio širdies nepakankamumo klasifikacijos

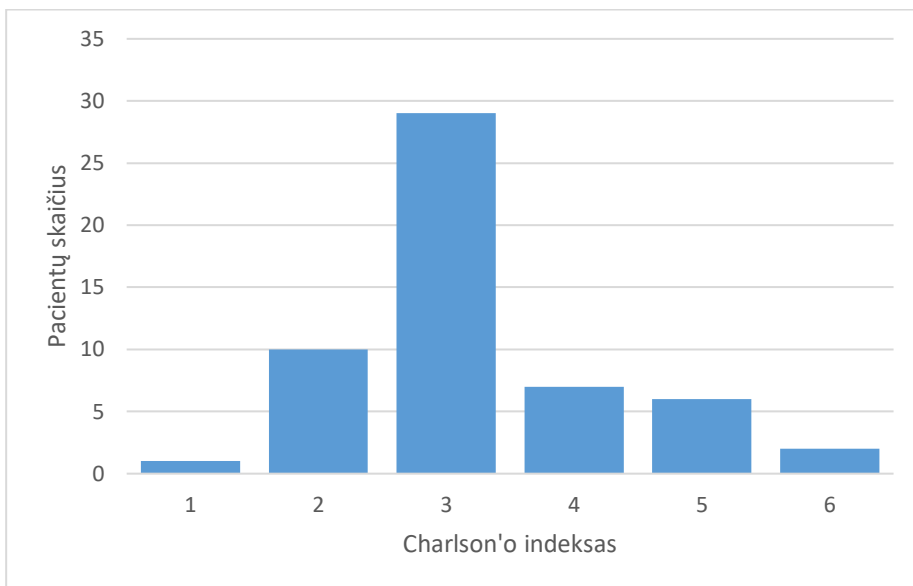
sistemą. Pagal šią klasifikaciją, didžioji tyrime dalyvavusių pacientų dalis (94,5 %) priklausė III širdies nepakankamumo klasei (žr. 3 paveikslą). Šiai klasei priklausantys pacientai jaučiasi gerai ramybėje, tačiau menkas fizinis krūvis sukelia dusulį, silpnumą, stenokardinius skausmus. Likusi pacientų dalis (5,5 %) buvo priskiriama II širdies nepakankamumo klasei – tai pacientai, kurie jaučia nedidelius fizinio krūvio apribojimus.

Į kitas NYHA klases tiriamieji nepateko. I NYHA klasei priklausantys pacientai serga lėtine širdies liga, tačiau fizinis krūvis nesukelia jokių apribojimų; IV NYHA klasė – sunkiausia lėtinio širdies nepakankamumo stadija, kai ramybės būsenoje jaučiamas diskomfortas.



3 paveikslas. Pacientų pasiskirstymas pagal Niujorko širdies asociacijos (NYHA) funkcinio pajėgumo klases

Pacientų gretutinių ligų sunkumui įvertinti naudotas Charlson sergamumo indeksas. Jis skaičiuojamas atsižvelgiant į 17 pagrindinių iš anksto nustatytų gretutinių ligų. Kiekvienai ligai pagal jos sunkumą yra skiriamas tam tikras balas. Susumavus visus balus išskiriamos trys Charlson sergamumo klasės: lengvos – 1–2 balai, vidutinio sunkumo – 3–4 balai ir sunkios – ≥ 5 balai. Pacientų pasiskirstymas pagal Charlson gretutinių ligų indeksą vaizduojamas 4 paveiksle.



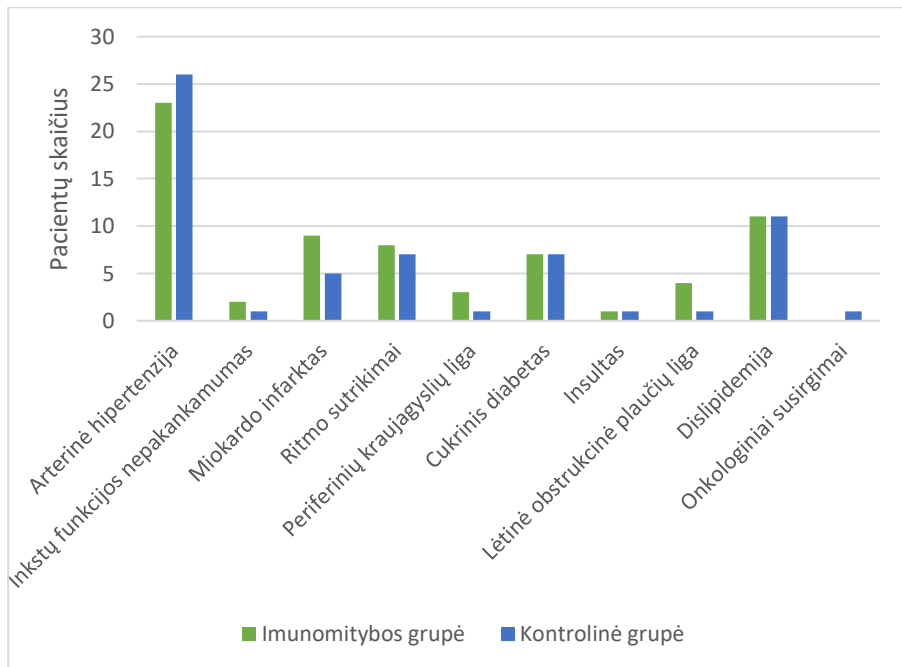
4 paveikslas. Pacientų pasiskirstymas pagal Charlson sergamumo indeksą

Abiejų tiriamųjų grupių sergamumo indekso mediana buvo 3. Tiriamieji priklausė vidutinio sunkumo sergamumo grupei. Gretutinių ligų paplitimas tarp tiriamųjų vaizduojamas 5 paveiksle ir 1 lentelėje.

1 lentelė. Gretutinių ligų paplitimas grupėse

Gretutinės ligos	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Charlson sergamumo indeksas, balai (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	3 [2,00–4,00]	3 [3,00–3,75]	0,570
Arterinė hipertenzija, n (%)	23 (85,2)	26 (92,9)	0,362
Inkstų funkcijos nepakankumas, n (%)	2 (7,4)	1 (3,6)	0,531
Miokardo infarktas, n (%)	9 (33,3)	5 (17,9)	0,188
Ritmo sutrikimai, n (%)	8 (29,6)	7 (25,0)	0,703
Periferinių kraujagyslių liga, n (%)	3 (11,1)	1 (3,6)	0,282
Diabetas, n (%)	7 (25,9)	7 (25,0)	0,937
Insultas, n (%)	1 (3,7)	1 (3,6)	0,979
Lėtinė obstrukcinė plaučių liga, n (%)	4 (14,8)	1 (3,6)	0,151
Onkologinės ligos, n (%)	0 (0)	1 (3,6)	
Dislipidemija, n (%)	11 (40,7)	11 (39,3)	0,913

Dažniausia gretutinė liga – arterinė hipertenzija, ji būdinga 89,1 % tiriamųjų. Tiriamųjų grupės pagal gretutinių ligų dažnį tarpusavyje statistiškai reikšmingai nesiskyrė.



5 paveikslas. Gretutinių ligų pasiskirstymas tiriamosiose grupėse

Prieš operaciją pacientams buvo įvertinta mirštamumo ir ankstyvųjų klinikinių baigčių po širdies operacijų tikimybė procentais pagal Krūtinės chirurgų draugijos (angl. *Society of Thoracic Surgeons* – STS) skaičiuoklę. Iš viso buvo vertintos devynios galimos klinikinės baigtys – apskaičiuota šių baigčių tikimybė procentais kiekvienam pacientui ir po to apskaičiuotas jų vidurkis ar mediana visai tiriamųjų kohortai bei atskirai tiriamosiose grupėse. Pagal STS skaičiuoklę gauta, kad mažiausia tikimybė yra įvykti infekcinėms komplikacijoms (tikimybės procentais mediana 0,23 [0,15–0,36]). Antra pagal mažiausią tikimybę baigtis buvo išeminis galvos smegenų infarktas, kurio mediana 1,29 [0,97–2,31]. Didžiausia tikimybė buvo trumpa hospitalizacija (<7 paros), vidurkis $30,37 \pm 14,15$ %. Vertintos klinikinės baigtys visai kohortai pateikiamos 2 lentelėje.

2 lentelė. Ankstyvųjų klinikinių baigčių tikimybė, vertinta prieš operaciją visoje tirtoje populiacijoje

STS klinikinės baigtys	Rizika %
Mirštamumas (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	2,16 [1,53; 3,66]
Inkstų funkcijos nepakankamumas (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	3,08 [1,76; 11,27]
Išeminis galvos smegenų infarktas (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	1,29 [0,97; 2,31]
Prailginta DPV (>24val.) (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	11,86 [9,46; 16,77]
Infekcinės komplikacijos (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	0,23 [0,15; 0,36]
Resternotomija (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	6,51 [4,26; 8,1]
Trumpa hospitalizacija (<7 parų) (vidurkis ± SD)	30,37 ± 14,15
Ilga hospitalizacija (>14 parų) (vidurkis ± SD)	8,19 ± 4,37

Vertinant ankstyvųjų klinikinių baigčių tikimybes tarp tiriamųjų grupių, reikšmingų statistinių skirtumų nebuvo rasta (žr. 3 lentelę). Trumpos hospitalizacijos (<7 parų) po operacijos tikimybė išliko labiausiai tikėtina, o mažiausiai tikėtina – infekcinės komplikacijos ir išeminio galvos smegenų infarkto įvykis. Prognostiškai vertindami pooperacines baigtis pagal STS skaičiuoklę matome, kad abiejų grupių pacientai turėjo panašią riziką šioms baigtims įvykti.

3 lentelė. Ankstyvųjų klinikinių baigčių rizika (%), vertinta prieš operaciją tiriamosiose grupėse

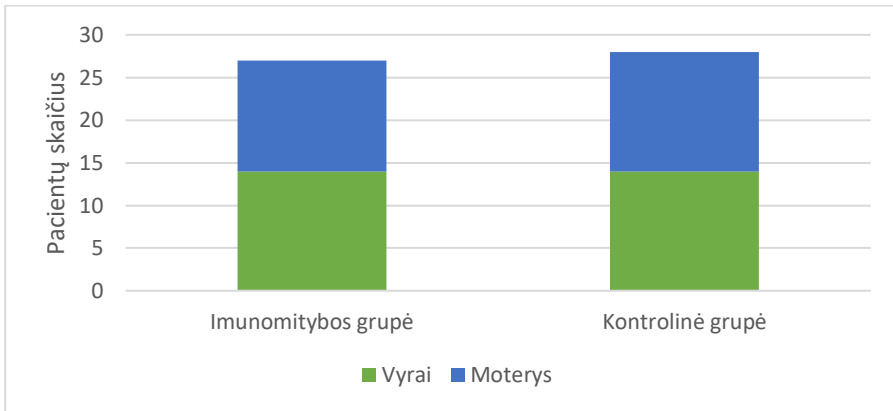
STS klinikinės baigtys	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Mirštamumas (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	2,46 [1,69; 4,16]	1,95 [1,43; 3,54]	0,281
Inkstų funkcijos nepakankamumas (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	3,39 [2,29; 17,29]	2,64 [1,44; 5,25]	0,195
Išeminis galvos smegenų infarktas (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	1,29 [0,97; 3,22]	1,3 [0,79; 1,87]	0,381
Prailginta DPV (>24val.) (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	12,21 [9,57; 17,95]	11,86 [9,06; 16,24]	0,400

STS klinikinės baigtys	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Infekcinės komplikacijos (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	0,26 [0,14; 0,35]	0,23 [0,15; 0,39]	0,993
Resternotomija (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	6,53 [4,34; 7,98]	6,25 [4,15; 8,42]	0,625
Trumpa hospitalizacija (<7 paros) (vidurkis ± SD)	29,5 ± 13,29	31,22 ± 15,13	0,657
Ilga hospitalizacija (>14 parų) (vidurkis ± SD)	7,93 ± 3,41	8,43 ± 5,2	0,676

Apibendrinant pacientų priešoperacinį vertinimą pagal rizikos skales matoma, jog tiriamųjų perioperacinių komplikacijų dažnis prognostiškai nėra didelis. Pagal adaptuotas kardiochirurgines skales naudojant EuroSCORE II modelį, perioperacinė mirtingumo rizika taip pat nebuvo didelė. Vertinant pacientus pagal STS kriterijus, gauta didelė trumpos hospitalizacijos tikimybė, kitų kriterijų rizikos taip pat atitiko mažesnes reikšmes už nustatytus vidurkius. Tačiau pacientus vertinant standartiniais priešoperaciniais metodais, jų būklė nebuvo lengva. Taip yra dėl to, kad kardiochirurginiai ligoniai dažniausiai yra vyresnio amžiaus, turintys daugiau gretutinių ligų, trapūs, turintys didesnę sergamumo ir vėlyvo mirštamumo riziką, o kardiochirurginės rizikos skalės yra pritaikytos būtent tokio profilio pacientams.

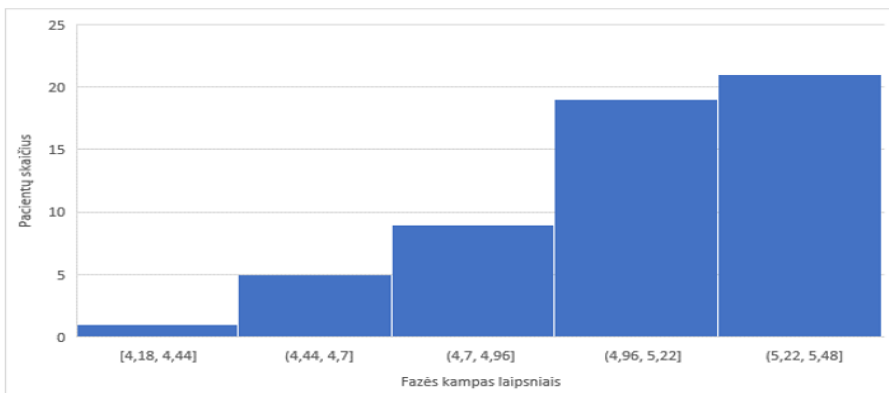
4.1.2. Tiriamųjų bendrųjų charakteristikų analizė

Taikant prieš tyrimą nustatytus įtraukimo ir atmetimo kriterijus, atrinkti 55 pacientai, tinkami dalyvauti tyrime. Tiriamųjų amžiaus vidurkis buvo 69,7 ± 6,3 metų. Vyriausias pacientas buvo 79 metų, jauniausias – 51 metų. Kohortą sudarė 27 (49,1 %) moterys ir 28 (50,9 %) vyrai. Moterų ir vyrų pasiskirstymas tiriamosiose grupėse vaizduojamas 6 paveiksle.



6 paveikslas. Vyrų ir moterų pasiskirstymas grupėse

Formuojant tiriamųjų grupę, turinčią mažesnę ląstelių gyvybingumą (trapių pacientų grupę), vienas pagrindinių įtraukimo kriterijų buvo fazės kampo reikšmė. Todėl visiems pacientams prieš operaciją buvo atliekamas bioelektrinio impedanso tyrimas fazės kampo reikšmei nustatyti. Gautas vidurkis – $5,09 \pm 0,28^\circ$. Įtraukimo į tyrimą slenkstinė fazės kampo vertė buvo $<5,5^\circ$. Kuo šis dydis yra mažesnis, tuo audinių ląstelės yra trapesnės, fiziologinis rezervas mažesnis, o pacientų po operacijos būklės sudėtingesnės. Mažiausia nustatyta fazės kampo reikšmė buvo $4,18^\circ$. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal fazės kampo reikšmes vaizduojamas 7 paveiksle.



7 paveikslas. Pacientų pasiskirstymas pagal fazės kampo reikšmę

Matome, kad didžiosios dalies tiriamųjų (40 pacientų, arba 72,7 %) fazės kampo reikšmės pateko į intervalą, esantį arčiausiai slenkstinės reikšmės – nuo $4,96^\circ$ iki $5,48^\circ$. Tai reiškia, kad daugumos pacientų ląstelių gyvybingumas buvo geresnis, palyginti su visos kohortos rezultatais.

Visos imties tiriamųjų bendrosios charakteristikos, kurios apima pacientų demografinius rodiklius, gretutinę patologiją, fizinės būklės, operacinės rizikos vertinimo skales bei operacinius rodiklius, yra pateikiamos 4 lentelėje.

4 lentelė. Bendrosios populiacijos charakteristikos

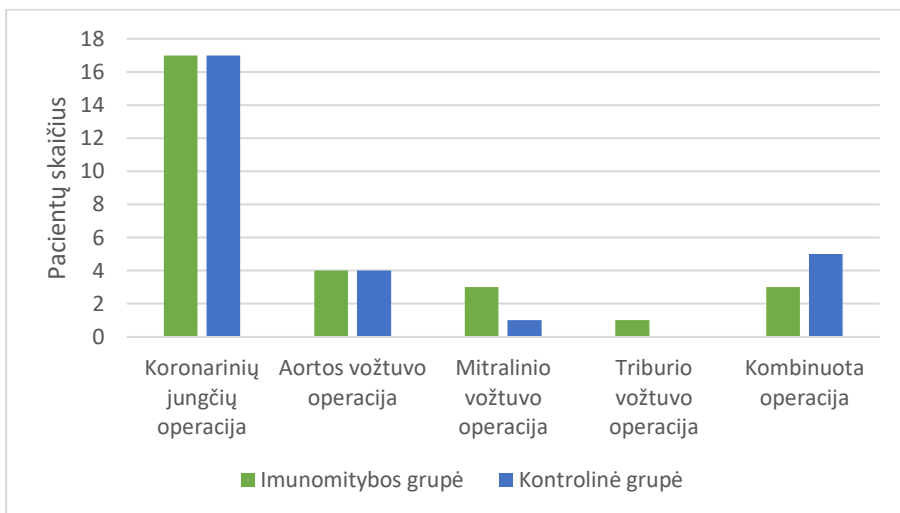
Kintamieji	Pasiskirstymas
Amžius metais (vidurkis ± SN)	69,7 ± 6,3
Vyrai, n (%)	28 (50,9)
Moterys, n (%)	27 (49,1)
Kūno masės indeksas, kg/m ² (vidurkis ± SN)	28,2 ± 4,8
Fazės kampas (°) (vidurkis ± SN)	5,09 ± 0,28
NYHA klasifikacija:	
II klasė, n (%)	3 (5,5)
III klasė, n (%)	52 (94,5)
I ir IV klasė, n (%)	0 (0)
ASA fizinė būklė:	
ASA III, n (%)	55 (100)
Charlson gretutinių ligų indeksas	3 [3–4]
Rūkymas, n (%)	5 (9,1)
Arterinė hipertenzija, n (%)	49 (89,1)
Inkstų funkcijos nepakankamumas, n (%)	3 (5,5)
Miokardo infarktas, n (%)	14 (25,5)
Ritmo sutrikimai, n (%)	15 (27,3)
Kairiojo skilvelio išstūmimo frakcija, % (vidurkis ± SN)	52,6 ± 5,8
Cukrinis diabetas, n (%)	14 (25,5)
Insulinu gydomas cukrinis diabetas, n (%)	0 (0)
Periferinių kraujagyslių liga, n (%)	4 (7,3)
Insultas, n (%)	2 (3,6)
Lėtinė obstrukcinė plaučių liga, n (%)	5 (9,1)
Onkologinės ligos, n (%)	1 (1,8)
Dislipidemija, n (%)	22 (40,0)
Operacijos tipas, n (%):	
Koronarinių jungčių operacija	34 (61,8)
Aortos vožtuvo operacija	8 (14,5)
Mitralinio vožtuvo operacija	4 (7,3)
Triburio vožtuvo operacija	1 (1,8)
Sudėtinė operacija	8 (14,5)
Aortos užspaudimo trukmė, min. (vidurkis ± SD)	75,3 ± 27,1
Dirbtinės kraujo apytakos trukmė, min. (vidurkis ± SD)	110,8 ± 36,5
Operacijos trukmė, min. (vidurkis ± SD)	258,1 ± 67,4

Prieš intervenciją grupės buvo tarpusavyje lygintos pagal visas bendrąsias charakteristikas. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių prieš intervenciją nenustatyta. Tai rodo, kad atsitiktine tvarka suformuotos tiriamosios grupės buvo homogeniškos. Grupių palyginimas pateikiamas 5 lentelėje.

5 lentelė. Demografinių rodiklių palyginimas pagal grupes

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Amžius metais (vidurkis ± SN)	68,3 ± 6,9	71,0 ± 5,4	0,112
Lytis:			
Vyrai	14 (51,9)	14 (50,0)	1,000
Moterys	13 (48,1)	14 (50,0)	1,000
NYHA klasifikacija:			
II klasė, n (%)	3 (11,1)	0 (0)	1,000
III klasė, n (%)	24 (88,9)	28 (100,0)	
I ir IV klasė, n (%)	0 (0)	0 (0)	
ASA fizinė būklė:			
ASA III, n (%)	27 (100,0)	28 (100,0)	1,000
Rūkymas, n (%)	4 (14,8)	1 (3,6)	0,151
Kūno masės indeksas, kg/m ² (vidurkis ± SN)	28,6 ± 5,1	27,8 ± 4,5	0,550
Fazės kampas (°) (mediana [pirmas ir trečias kvartilai])	5,2 [5,04; 5,32]	5,11 [4,72; 5,30]	0,117
Kairiojo skilvelio išstūmimo frakcija, % (vidurkis ± SN)	52,9 ± 6,6	52,3 ± 5,1	0,723

Į tyrimą daugiausiai buvo įtraukta pacientų, kuriems buvo atliekamos koronarinių jungčių operacijos, iš viso atlikta 34 (61,8 %) tokios operacijos, o mažiausiai buvo atlikta triburio vožtuvo operacijų – 1 (1,8 %). Pagal operacijos tipus tiriamosios grupės buvo pasiskirsčiusios tolygiai, skirtumų nerasta. Operacijų tipų pasiskirstymas grupėse vaizduojamas 8 paveiksle.



8 paveikslas. Operacijų tipai pagal tiriamąsias grupes

Vidutinė vienos operacijos trukmė buvo $258,1 \pm 67,4$ minutės. Jų metu dirbtinė kraujo apytaka buvo naudojama vidutiniškai $110,8 \pm 36,5$ minutės (t. y. apie 43 % viso operacijos laiko), o aortos užspaudimo laikas vidutiniškai buvo $75,3 \pm 27,1$ minutės. Operacijos laikas tarp grupių taip pat statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Duomenys pateikiami 6 lentelėje.

6 lentelė. Operaciniai duomenys pagal grupes

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
EuroSCORE II, % (vidurkis \pm SN)	1,97 (0,8)	1,99 (0,8)	0,918
Operacijos tipas, n (%):			
Koronarinių jungčių operacija	17 (63,0)	17 (60,7)	1,000
Aortos vožtuvo operacija	4 (14,8)	4 (14,3)	1,000
Mitralinio vožtuvo operacija	3 (11,1)	1 (3,6)	1,000
Triburio vožtuvo operacija	1 (3,7)	0 (0)	1,000
Sudėtinė operacija	3 (11,1)	5 (17,8)	
Aortos užspaudimo trukmė, min. (vidurkis \pm SD)	$75,5 \pm 29,3$	$75,2 \pm 25,4$	0,966
DKA trukmė, min. (vidurkis \pm SD)	$112,6 \pm 39,3$	$109,2 \pm 34,2$	0,735
Operacijos trukmė, min. (vidurkis \pm SD)	$257,4 \pm 73,5$	$258,75 \pm 62,4$	0,944

4.2. Kraujo produktų naudojimas

Širdies operacija yra didelės apimties intervencija, dažnu atveju susijusi su padidėjusia kraujavimo rizika. Literatūros duomenimis, nuo 27 % iki 92 % operacijų atvejų yra reikalingos kraujo transfuzijos (322). Nors tai ir nebuvo susiję su tyrimu nagrinėtu imunomišinių poveikiu imuninei sistemai, kadangi kraujavimo rizika yra didžiausia operacijos ir ankstyvuoju pooperaciniu periodu, kai mityba dar nebuvo pradėta ar nebuvo dar baigta, tačiau kraujo transfuzijos yra papildomas imunogeninis veiksnys, kuris galėjo iškreipti pacientų imunologinį profilį tyrimo pradžioje. Taigi kraujo produktų transfuzijos iš viso buvo atliktos 21 pacientui (38 % tiriamųjų). Dažniausiai buvo atliekama eritrocitų masės transfuzija – iš viso 20 (36,6 %) atvejų. Šviežiai šaldytos plazmos transfuzijos atvejų buvo 3 (5,5 %) ir vienam pacientui prireikė perpilti trombocitų masę bei krioprecipitą. Kadangi reikšmingų skirtumų vertinant kraujo produktų transfuzijų dažnį tarp grupių negauta, galima daryti išvadą, kad imunologinis pacientų profilis, lyginant tiriamąsias grupes, neturėjo būti paveiktas. Duomenys pateikiami 7 lentelėje.

7 lentelė. Kraujo produktų transfuzijos

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Kraujo produktų transfuzija, n (%)	11 (40,7)	10 (35,7)	0,704
Eritrocitų masės transfuzija, n (%)	11 (40,7)	9 (32,1)	0,511
Šviežiai šaldytos plazmos transfuzija, n (%)	1 (3,7)	2 (7,1)	0,578
Aferezinių trombocitų transfuzija, n (%)	0	1 (3,6)	
Krioprecipitatas, n (%)	0	1 (3,6)	

4.3. Neimunologinių laboratorinių tyrimų vertinimas

4.3.1. Laboratorinių tyrimų vertinimas prieš operaciją

Pagal nustatytą tyrimo metodiką, laboratoriniai tyrimai pacientams buvo atliekami tokia tvarka: pirmą parą prieš operaciją ir šeštą parą po operacijos (bendrasis kraujo tyrimas, biocheminis kraujo tyrimas, imunologiniai tyrimai). Kiti tyrimai pacientų gydymo laikotarpiu buvo atliekami ir kartojami įprastu režimu, stebima jų dinamika. Tyrimai buvo atliekami ne reguliariai, o

pagal klinikinę situaciją ir poreikį, dažniausiai tai buvo bendrasis kraujo tyrimas bei biocheminiai kraujo tyrimai organų funkcijai vertinti.

Įvertinus priešoperacinius laboratorinius tyrimus (bendrasis kraujo tyrimas, biocheminis kraujo tyrimas) bendrai tirtoje populiacijoje bei tarp grupių, statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatyta. Prieš operaciją bendrojo ir biocheminio kraujo tyrimų rodikliai atitiko normos ribas, uždegiminiai rodikliai nebuvo padidėję. Duomenys pateikiami 8 lentelėje.

8 lentelė. Priešoperaciniai laboratoriniai duomenys

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Hemoglobinas, g/l (vidurkis ± SD)	127,92 ± 11,18	129,14 ± 14,77	0,735
Hematokritas, % (vidurkis ± SD)	38,8 ± 3,1	39,4 ± 5,5	0,615
Trombocitai, ×10 ⁹ /l (vidurkis ± SD)	215,31 ± 54,86	219,11 ± 53,38	0,798
Kreatininas, mmol/l (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	72,00 [65,00; 90,00]	77,00 [69,25; 88,75]	0,601

4.3.2. Laboratorinių tyrimų vertinimas šeštą pooperacinę parą

Vertinant pooperacinius šeštos paros laboratorinius duomenis (bendrojo ir biocheminio kraujo tyrimo rodiklius) reikšmingų skirtumų tarp grupių negauta. Duomenys pateikiami 9 lentelėje.

9 lentelė. Šeštos pooperacinės paros laboratoriniai duomenys

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Hemoglobinas po operacijos, g/l (vidurkis ± SD)	99,70 ± 12,13	102,79 ± 12,24	0,353
Hematokritas po operacijos, % (vidurkis ± SD)	29,54 ± 4,18	30,90 ± 3,53	0,198
Kreatininas (mmol/l) (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	78,00 [66,00; 118,00]	96,50 [79,00; 118,75]	0,140

4.4. Imunologinis pacientų vertinimas

4.4.1. Imunologinis vertinimas prieš operaciją

Imunologiniai tyrimai buvo atlikti prieš operaciją, jų rodikliai nesiskyrė tarp grupių. Grupės buvo homogeniškos. Verta paminėti, kad imuninių ląstelių skaičius tirtoje populiacijoje buvo labai išsibarstęs – reikšmės išsidėsčiusios plačiuose intervaluose. CD3+ T ląstelių skaičius įvairavo nuo 0,35 ($\times 10^9/l$) iki 3,75 ($\times 10^9/l$). Dalis tirtų pacientų prieš operaciją turėjo antrinį ląstelinį imunodeficitą, kadangi 45 % pacientų absoliutus T limfocitų skaičius buvo mažesnis nei $1,10 \times 10^9/l$. Tokie imuninių ląstelių pakitimai kaip tik yra būdingi vyresnio amžiaus žmonėms, kuomet galima paaiškinti šiuos pakyčius. Imunologinių tyrimų rezultatai pateikiami 10 lentelėje.

10 lentelė. Priešoperaciniai imunologiniai duomenys

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Leukocitai, $\times 10^9/l$ (vidurkis \pm SD)	6,41 \pm 1,41	5,82 \pm 1,7	0,181
Monocitai, $\times 10^9/l$ (vidurkis \pm SD)	0,55 \pm 0,27	0,45 \pm 0,19	0,099
Neutrofilai, $\times 10^9/l$ (vidurkis \pm SD)	3,29 \pm 1,06	2,75 \pm 1,03	0,064
Bazofilai, $\times 10^9/l$ (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	0,02 [0,01; 0,03]	0,03 [0,01; 0,04]	0,199
Eozinofilai, $\times 10^9/l$ (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	0,14 [0,07; 0,18]	0,12 [0,08; 0,23]	0,919
Limfocitai, $\times 10^9/l$ (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	1,38 [1,13; 2,00]	1,13 [0,81; 1,80]	0,058
CD3+ T limfocitai, $\times 10^9/l$ (vidurkis \pm SD)	1,44 \pm 0,61	1,15 \pm 0,62	0,093
CD4+ T limfocitai, $\times 10^9/l$ (vidurkis \pm SD)	0,95 \pm 0,39	0,76 \pm 0,41	0,091
CD8+ T limfocitai, $\times 10^9/l$ (vidurkis \pm SD)	0,48 \pm 0,28	0,38 \pm 0,29	0,191
CD4+/CD8+ santykis (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	1,99 [1,52; 3,29]	2,52 [1,58; 3,69]	0,469
CD4+CD69+ T limfocitai, $\times 10^9/l$ (vidurkis \pm SD)	0,40 \pm 0,31	0,30 \pm 0,25	0,304

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
CD4+CD69+ T limfocitai, % (vidurkis ± SD)	21,1 ± 11,85	20,65 ± 9,4	0,876
CD8+CD69+ T limfocitai, ×10 ⁹ /l (vidurkis ± SD)	0,31 ± 0,46	0,15 ± 0,15	0,121
CD8+CD69 T limfocitai, % (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	12,3 [5,4; 17,1]	7,4 [5,53; 10,75]	0,210

4.4.2. Imunologinis vertinimas šeštą pooperacinę parą

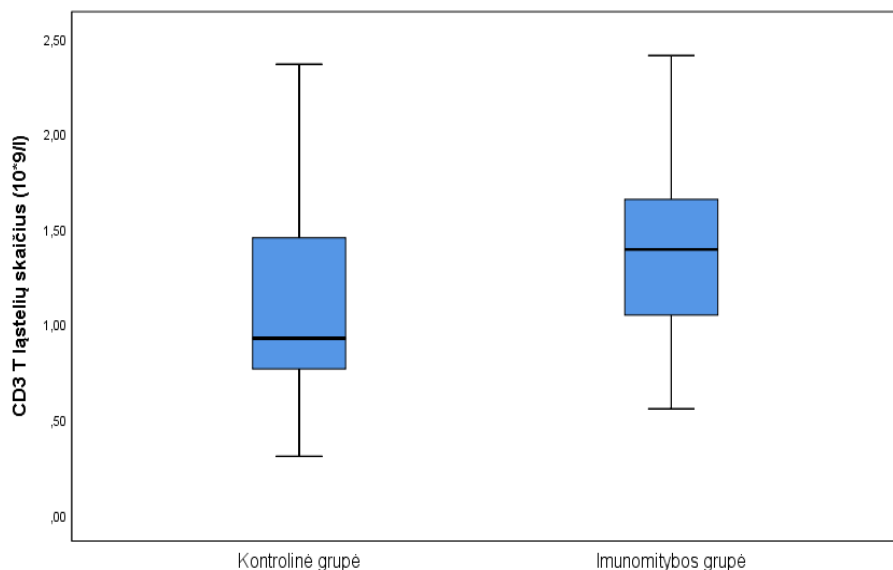
4.4.2.1. Leukograma ir T ląstelių skaičius šeštą pooperacinę parą

Šeštą pooperacinę parą buvo pakartoti tokie pat tyrimai, kaip ir prieš operaciją. Analizuoti ir lyginti gautų tyrimų rezultatai tarp grupių. Šeštą pooperacinę parą didesnis absoliutus CD3+ T ląstelių ir CD4+ T ląstelių skaičius buvo nustatytas imunomitybos grupėje. CD3+ T ląstelių imunomitybos grupėje vidurkis buvo $1,42 \pm 0,49$, o kontrolinėje grupėje – $1,12 \pm 0,56$ (ląstelių skaičius pateiktas $\times 10^9/l$), $p = 0,035$. CD4+ T ląstelių vidurkis imunomitybos grupėje buvo $1,02 \pm 0,36$, o kontrolinėje – $0,80 \pm 0,43$, $p = 0,048$. CD8+ T ląstelių skaičius taip pat buvo didesnis šeštą pooperacinę parą imunomitybos grupėje, tačiau statistškai reikšmingo skirtumo negauta, vidurkiai $0,40 \pm 0,21$ ir $0,30 \pm 0,18$, $p = 0,066$. Duomenys pateikiami 11 lentelėje bei 9, 10, 11 paveiksluose.

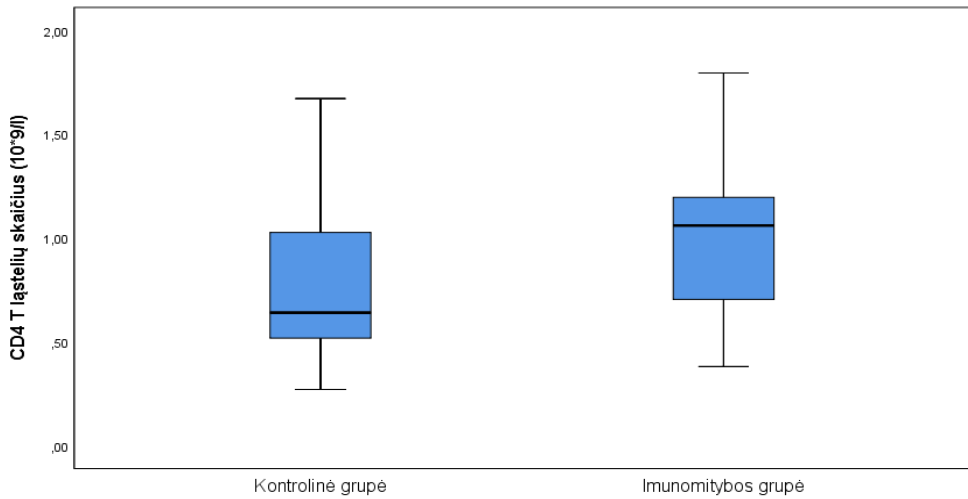
11 lentelė. Pooperaciniai laboratoriniai rodikliai

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Leukocitai ($\times 10^9/l$) (vidurkis ± SD)	8,49 ± 3,03	8,43 ± 2,31	0,923
Monocitai ($\times 10^9/l$) (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	0,84 [0,72; 1,03]	0,88 [0,79; 1,13]	0,368
Neutrofilai ($\times 10^9/l$) (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	4,46 [3,61; 6,67]	4,94 [3,65; 6,34]	0,736
Bazofilai, $\times 10^9/l$ (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	0,02 [0,01; 0,04]	0,03 [0,02; 0,05]	0,146

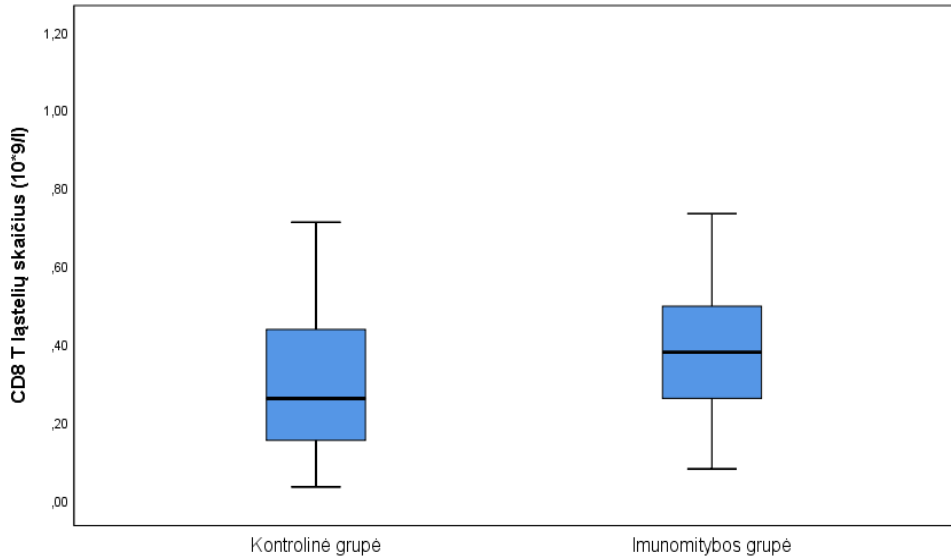
	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Eozinofilai, $\times 10^9/l$ (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	0,29 [0,13; 0,41]	0,29 [0,18; 0,55]	0,495
Limfocitai ($\times 10^9/l$) (vidurkis \pm SD)	1,87 \pm 0,67	1,55 \pm 0,74	0,103
CD3+ T ląstelės (%) (vidurkis \pm SD)	77,33 \pm 11,06	74,04 \pm 16,24	0,384
CD4+ T ląstelės (%) (vidurkis \pm SD)	55,72 \pm 11,27	53,68 \pm 14,63	0,566
CD8+ T ląstelės (%) (vidurkis \pm SD)	21,36 \pm 7,76	19,24 \pm 8,32	0,332
CD4+/CD8+ santykis (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	2,28 [2,04; 4,01]	2,47 [2,06; 4,73]	0,533
CD3+ T ląstelės ($\times 10^9/l$) (vidurkis \pm SD)	1,42 \pm 0,49	1,12 \pm 0,56	0,035
CD4+ T ląstelės ($\times 10^9/l$) (vidurkis \pm SD)	1,02 \pm 0,36	0,80 \pm 0,43	0,048
CD8+ T ląstelės ($\times 10^9/l$) (vidurkis \pm SD)	0,40 \pm 0,21	0,30 \pm 0,18	0,066



9 paveikslas. CD3+ T ląstelių skaičius šeštą pooperacinę parą



10 paveikslas. CD4+ T ląstelių skaičius šeštą pooperacinę parą



11 paveikslas. CD8+ T ląstelių skaičius šeštą pooperacinę parą

4.4.2.2. T ląstelių aktyvacija – CD69+ žymuo

T limfocitų subgrupių aktyvacijai nustatyti buvo vertinamas CD69+ žymuo ir tiriama, ar CD4+ ląstelių koncentracijos padidėjimas šeštą pooperacinę parą buvo susijęs su jų aktyvacija. CD69+ žymuo buvo skaičiuotas absoliučiu ląstelių skaičiumi (ląstelių skaičius $\times 10^9/l$) bei procentine išraiška. Šeštą pooperacinę parą imunomitybos grupėje CD4+CD69+ ląstelių skaičiaus

mediana buvo 0,25 [0,16; 0,50], o kontrolinėje grupėje – 0,22 [0,13; 0,41], statistiškai reikšmingo skirtumo negauta, $p = 0,578$. CD8+CD69+ limfocitų skaičiaus mediana imunomitybos grupėje buvo 0,13 [0,06; 0,26], kontrolinėje grupėje – 0,09 [0,05; 0,14], statistiškai reikšmingo skirtumo taip pat negauta, $p = 0,178$.

Lyginant CD69+ žymens skaičius prieš operaciją ir po operacijos pastebima, kad šeštą pooperacinę parą tiek CD4+CD69+, tiek CD8+CD69+ ląstelių skaičiai, nors ir nereikšmingai, yra mažesni. Duomenys pateikiami 12 lentelėje.

12 lentelė. T ląstelių subgrupių aktyvacija vertinant CD69+ žymenį prieš operaciją ir po operacijos tarp grupių

	Prieš operaciją			Po operacijos		
	Imunomitybos grupė	Kontrolinė grupė	P reikšmė	Imunomitybos grupė	Kontrolinė grupė	P reikšmė
CD3+ T ląstelės ($\times 10^9/l$)	1,44 \pm 0,61	1,15 \pm 0,62	0,093	1,42 \pm 0,49	1,12 \pm 0,56	0,035
CD4+ T ląstelės ($\times 10^9/l$)	0,95 \pm 0,39	0,76 \pm 0,41	0,091	1,02 \pm 0,36	0,80 \pm 0,43	0,048
CD8+ T ląstelės ($\times 10^9/l$)	0,48 \pm 0,28	0,38 \pm 0,29	0,191	0,40 \pm 0,21	0,30 \pm 0,18	0,066
CD4+CD69+ T ląstelės ($\times 10^9/l$)	0,40 \pm 0,31	0,30 \pm 0,25	0,304	0,25 [0,16; 0,50]	0,22 [0,13; 0,41]	0,578
CD4+CD69+ T ląstelės (%)	21,1 \pm 11,85	20,7 \pm 9,4	0,876	17,4 \pm 11,1	18,0 \pm 9,7	0,813
CD8+CD69+ T ląstelės ($\times 10^9/l$)	0,31 \pm 0,46	0,15 \pm 0,15	0,121	0,13 [0,06; 0,3]	0,09 [0,05; 0,14]	0,178
CD8+CD69+ T ląstelės (%)	12,3 [5,4; 17,1]	7,4 [5,53; 10,75]	0,210	7,1 [3,2; 14,7]	6,45 [3,75; 9,07]	0,578

Duomenys pateikti vidurkiu \pm SD arba mediana [pirmas ir trečias kvartiliai].

Kadangi CD69+ žymens skaičius nebuvo padidėjęs ir reikšmingai nesiskyrė tarp grupių 6-ą pooperacinę parą, galima daryti prielaidą, kad tolesnė T ląstelių diferenciacija į jų potipius tuo metu nevyko.

4.4.2.3. Nespecifinis imuninis atsakas – citokinai

Siekiant įvertinti imunomitybos poveikį nespecifiniam imunitetui, buvo nagrinėti sisteminio uždegiminio atsako žymenys. Prokalcitoninas buvo vertintas, kad būtų galima atmesti infekcijos sukeltą sisteminių uždegiminių atsaką ir su tuo susijusį citokinų koncentracijos padidėjimą. Prokalcitonino koncentracija grupėse nei prieš, nei po operacijos nebuvo padidėjusi. Citokinų koncentracija dėl šaldytos plazmos trūkumo nebuvo nustatyta 11 pacientų. Šie skaičiavimai buvo atlikti 44 pacientams – 24 (54,5 %) imunomitybos grupės ir 20 (44,5 %) kontrolinės grupės. Šių pacientų amžiaus vidurkis buvo $72,4 \pm 4,7$ metų. Reikšmingo citokinų koncentracijų skirtumo tarp grupių prieš operaciją ir po operacijos nebuvo rasta. Duomenys pateikiami 13 lentelėje.

13 lentelė. Prokalcitonino, C reaktyviojo baltymo ir citokinų koncentracijos, kurios vertintos 44 pacientams

	Prieš operaciją			Po operacijos		
	Imunomitybos grupė	Kontrolinė grupė	p	Imunomitybos grupė	Kontrolinė grupė	p
PCT (mcg/l)	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,01]	0,898	0,03 [0,01; 0,09]	0,05 [0,03; 0,08]	0,352
CRB (mg/l)	1,87 [0,80; 4,70]	1,33 [0,70; 3,25]	0,429	62,7 [34,2; 106,0]	63,7 [32,9; 91,0]	0,840
TNF- α (ng/l)	7,23 \pm 3,23	8,03 \pm 3,05	0,406	8,13 [7,32; 10,31]	8,78 [7,65; 11,2]	0,300
IL-6 (ng/l)	3,21 [2,61; 4,71]	3,15 [2,43; 7,67]	0,588	14,65 [9,28; 18,95]	12,25 [8,55; 22,50]	0,786
IL-10 (ng/l)	5,0 [5,0; 5,0]	5,0 [5,0; 5,0]	0,192	5,0 [5,0; 5,0]	5,0 [5,0; 5,0]	0,343

Duomenys pateikti vidurkiu \pm SD arba mediana [pirmas ir trečias kvartilai].

Taip pat nebuvo rasta skirtumo tarp prokalcitonino bei C reaktyviojo baltymo koncentracijų. Verta pažymėti, kad 6-ą parą po operacijos CRB koncentracija išliko padidėjusi (vidurkiai imunomitybos ir kontrolinėje grupėje atitinkamai 62,7 mg/l ir 63,7 mg/l). Manoma, kad šio padidėjimo priežastis – išlikęs

operacijos sukeltas sisteminio uždegiminio atsakas, kadangi prokalцитonino, specifinio bakterinių infekcijų žymens, koncentracijos nebuvo padidėjusios.

4.4.2.4. Koreliacinė T ląstelių analizė

Ryšiai tarp T ląstelių skaičiaus ir kitų kintamųjų įvertinti buvo sudaryti tiesinės regresijos modeliai. Prieš tai atlikta koreliacinė analizė, kuria remiantis į modelius buvo įtraukti ir tirti tik tie kintamieji, kurie turėjo koreliacijos požymių su T ląstelių pooperaciniu skaičiumi.

CD3+ T pooperacinis ląstelių skaičius reikšmingai teigiamai koreliavo su imunomitybos taikymu ir priešoperacine trombocitų koncentracija bei reikšmingai neigiamai – su amžiumi ir prokalцитonino koncentracija šeštą pooperacinę parą. Koreliacijos buvo silpnos. Duomenys pateikiami 14 lentelėje.

14 lentelė. Koreliacijos koeficientai tarp CD3+ T ląstelių skaičiaus šeštą parą ir kitų kintamųjų

	CD3+ T pooperacinis ląstelių skaičius	P reikšmė
Imunomityba	0,330	0,014
Amžius	-0,352	0,008
Priešoperacinė trombocitė koncentracija	0,453	0,001
Prokalцитonino koncentracija 6-ą parą	-0,301	0,047
TNF koncentracija 6-ą parą	-0,033	0,829
IL-6 koncentracija 6-ą parą	-0,306	0,043
IL-10 koncentracija 6-ą parą	-0,266	0,081
Operacijos trukmė (min.)	0,107	0,438
Dirbtinės kraujo apytakos trukmė (min.)	-0,108	0,431

Vertinant CD4+ T ląstelių skaičiaus 6-tą pooperacinę parą koreliacijas gauta: reikšmingai teigiama silpna koreliacija su imunomitybos taikymu ir priešoperacine trombocitų koncentracija bei reikšmingai neigiama silpna koreliacija su amžiumi. Duomenys pateikiami 15 lentelėje.

15 lentelė. Koreliacijos koeficientai tarp CD4+ T ląstelių skaičiaus šeštą parą ir kitų kintamųjų

	CD4+ T pooperacinis ląstelių skaičius	P reikšmė
Imunomityba	0,339	0,011
Amžius	-0,291	0,031
Priešoperacinė trombocitų koncentracija	0,425	0,001
Prokalcitonino koncentracija 6-ą parą	-0,289	0,057
TNF koncentracija 6-ą parą	-0,059	0,705
IL-6 koncentracija 6-ą parą	-0,288	0,058
IL-10 koncentracija 6-ą parą	-0,245	0,109
Operacijos trukmė (min.)	-0,092	0,503
Dirbtinės kraujo apytakos trukmė (min.)	0,123	0,371

Taip pat atlikta CD8+ T ląstelių skaičiaus 6-ą pooperacinę parą koreliacijos analizė. Gauta reikšmingai teigiama koreliacija su priešoperacine trombocitų koncentracija bei reikšmingai neigiama koreliacija su amžiumi. Duomenys pateikiami 16 lentelėje.

16 lentelė. Koreliacijos koeficientai tarp CD8+ T ląstelių skaičiaus šeštą parą ir kitų kintamųjų

	CD8+ T pooperacinis ląstelių skaičius	P reikšmė
Imunomityba	0,259	0,056
Amžius	-0,326	0,015
Priešoperacinė trombocitų koncentracija	0,327	0,016
Prokalcitonino koncentracija 6-ą parą	-0,212	0,167
TNF koncentracija 6-ą parą	0,036	0,818
IL-6 koncentracija 6-ą parą	-0,226	0,141
IL-10 koncentracija 6-ą parą	-0,222	0,148
Operacijos trukmė (min.)	-0,072	0,603
Dirbtinės kraujo apytakos trukmė (min.)	0,057	0,678

4.4.2.5. Regresinė T ląstelių skaičiaus analizė

Kintamieji, kurių koreliacijos koeficientas $>0,2$, buvo įtraukti į tiesinės regresijos modelius. Modeliai sudaryti ieškant geriausio kintamųjų derinio reikšmingiems ląstelių skaičiaus pokyčiams gauti. Nustatyti reikšmingi modeliai tarp imunomitybos ir CD3+, CD4+ T limfocitų koncentracijų pokyčių bei kitų kintamųjų.

CD3+ T ląstelėms sudaryto modelio determinacijos koeficientas R^2 buvo 0,318, o tai reiškia, kad tiesinės regresijos modelis CD3+ T ląstelėms atitiko 31,8 % tikrųjų reikšmių. Skiriant imunomitybą, CD3+ T ląstelių skaičius reikšmingai padidėja 0,264 vienetais (skaičiuota $\times 10^9/l$), esant fiksuotoms kitoms į modelį įtrauktų kintamųjų reikšmėms. CD3+ ląstelių koncentracijos priklausomybę nuo kitų kintamųjų galima išreikšti formule: $Y = 1,710 + 0,264 \times X + (-0,022 \times A) + 0,004 \times PLT$; čia y – CD3+ T ląstelių koncentracija, X – imunomityba ($X = 1$, kai pacientas maitintas specialiu imunomišiniu, $X = 0$, kai pacientas specialiu imunomišiniu nemaitintas), A – amžius metais, PLT – priešoperacinė trombocitų koncentracija. CD3+ T ląstelių skaičiaus kitimo tiesinės regresijos analizė pateikiama 17 lentelėje.

17 lentelė. CD3+ T ląstelių skaičiaus kitimo tiesinė regresinė analizė

	CD3+ T ląstelių skaičius				
F = 9,388, p < 0,001, koreguotas R² = 0,318					
	B	Beta	t	CI 95 %	P
Konstanta	1,710		2,177	0,133– 3,287	0,034
Imunomityba	0,264	0,245	2,123	0,014– 0,514	0,039
Amžius	-0,022	-0,256	-2,207	-0,042–(-)0,002	0,032
Priešoperacinė trombocitų koncentracija	0,004	0,435	3,842	0,002– 0,007	<0,001

Kito sudaryto modelio determinacijos koeficientas R^2 buvo 0,232 – tiesinės regresijos modelis CD4+ T ląstelėms atitiko 23,2 % tikrųjų reikšmių. Šis modelis parodė, kad imunomitybos grupėje CD4+ T ląstelių skaičius padidėjo per 0,232 vienetus (skaičiuota $\times 10^9/l$), kai kiti modelyje esantys kintamieji yra

fiksuotos reikšmės. CD4+ ląstelių koncentracijos priklausomybę nuo kitų kintamųjų galima išreikšti formule: $Y = 0,062 + 0,232 \times X + 0,003 \times PLT$; čia: y – CD4+ T ląstelių koncentracija, X – imunomityba (X = 1, kai pacientas maitintas specialiu imunomišiniu, X = 0, kai pacientas specialiu imunomišiniu nemaitintas), PLT – priešoperacinė trombocitų koncentracija. CD4+ T ląstelių skaičiaus kitimo tiesinės regresijos analizė pateikiama 18 lentelėje. Statistiškai reikšmingų modelių CD8+ T ląstelių pokyčiams nepavyko rasti.

18 lentelė. CD4+ T ląstelių skaičiaus kitimo regresinė analizė

		CD4+ T ląstelių skaičius			
F = 9,159, p < 0,001, koreguotas R² = 0,232					
	B	Beta	t	CI 95%	P
Konstanta	0,062		0,288	-0,368– 0,492	0,774
Imunomityba	0,232	0,283	2,372	0,036– 0,427	0,021
Priešoperaciniai trombocitai	0,003	0,435	3,644	0,002– 0,005	0,001

4.5. Klinikinės baigtys

4.5.1. Ankstyvosios baigtys

4.5.1.1. STS klinikinės baigtys

Prieš operaciją pacientams buvo įvertinta mirštamumo ir ankstyvųjų klinikinių baigčių po širdies operacijų tikimybė procentais pagal Krūtinės chirurgų draugijos (angl. *Society of Thoracic Surgeons* – STS) skaičiuoklę. Pagal tai pacientų grupės buvo homogeniškos, reikšmingų skirtumų negauta, duomenys pateikiami 19 lentelėje. Po operacijos pagal tuos pačius STS kriterijus buvo įvertintos klinikinės pacientų baigtys pooperaciniu hospitalizacijos laikotarpiu.

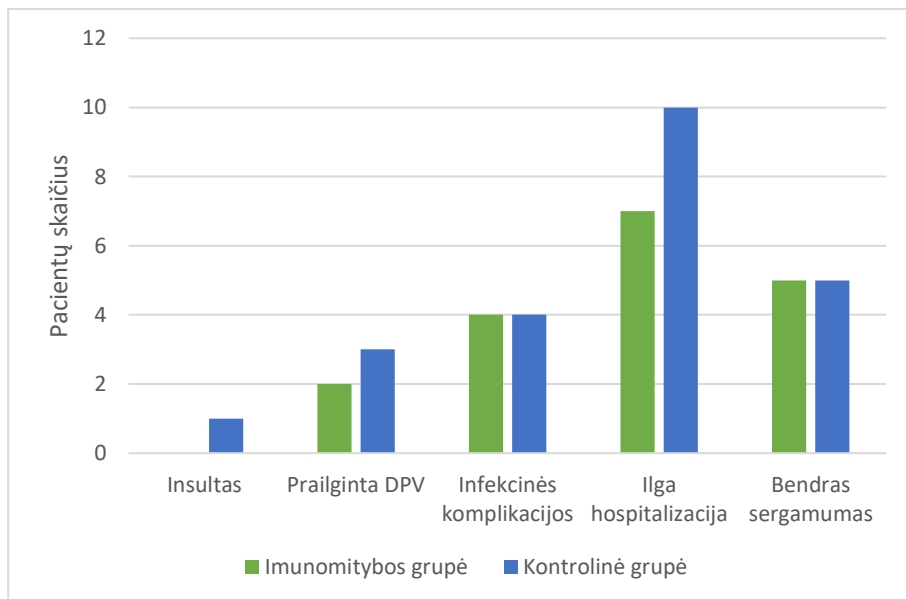
19 lentelė. Klinikinės pacientų baigtys pooperaciniu hospitalizacijos periodu pagal STS kriterijus

Klinikinės baigtys pagal STS kriterijus	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P
Mirštamumas, n (%)	0 (0)	0 (0)	
Inkstų funkcijos nepakankamumas, n (%)	0 (0)	0 (0)	
Išeminis galvos smegenų infarktas, n (%)	0 (0)	1 (3,6)	
Prailginta DPV (>24 val.), n (%)	2 (7,4)	3 (10,7)	0,670
Infekcinės komplikacijos, n (%)	4 (14,8)	4 (14,3)	0,956
Resternotomija, n (%)	0 (0)	0 (0)	
Trumpa hospitalizacija (<6 parų), n (%)	0 (0)	0 (0)	
Ilgą hospitalizaciją (>14 parų), n (%)	7 (25,9)	10 (35,7)	0,432
Bendras sergamumas, n (%)	5 (18,5)	5 (17,9)	0,949

DPV – dirbtinė plaučių ventiliacija

Nė vienas tiriamasis hospitalizacijos laikotarpiu po operacijos nemirė. Inkstų funkcija buvo vertinta pagal ūminio inkstų pažeidimo RIFLE (angl. *Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage kidney disease*) kriterijus: serumo kreatinino koncentracijos padidėjimą, glomerulų filtracijos greičio (GFG) sumažėjimą ar išskiriamo šlapimo kiekio sumažėjimą. Pacientai, kurie atitiko nepakankamumo (angl. *Failure*) klasę, buvo įtraukti į pooperacinio inkstų funkcijos nepakankamumo, vertinto pagal STS kriterijus, grupę. Ūminis inkstų pažeidimas buvo nustatomas pagal GFG sumažėjimą. Taigi remiantis šiais kriterijais pooperacinis inkstų funkcijos nepakankamumas (kai GFG sumažėjęs >75 %) nebuvo nustatytas nė vienam pacientui. Detalesnis inkstų pažeidimo vertinimas bus pateiktas toliau. Vienam pacientui pooperaciniu laikotarpiu įvyko galvos smegenų infarktas, pacientas priklausė kontrolinei grupei. Prailgintos dirbtinės plaučių ventiliacijos atvejų skaičius nesiskyrė tarp grupių. Reikšmingo skirtumo nerasta vertinant infekcinių komplikacijų dažnį: abiejose tiriamosiose grupėse buvo po keturis infekcinių komplikacijų atvejus, šios komplikacijos detalčiau bus aptartos kitame skyriuje. Ilga hospitalizacija (>14 parų) buvo dažnesnė kontrolinėje grupėje, tačiau

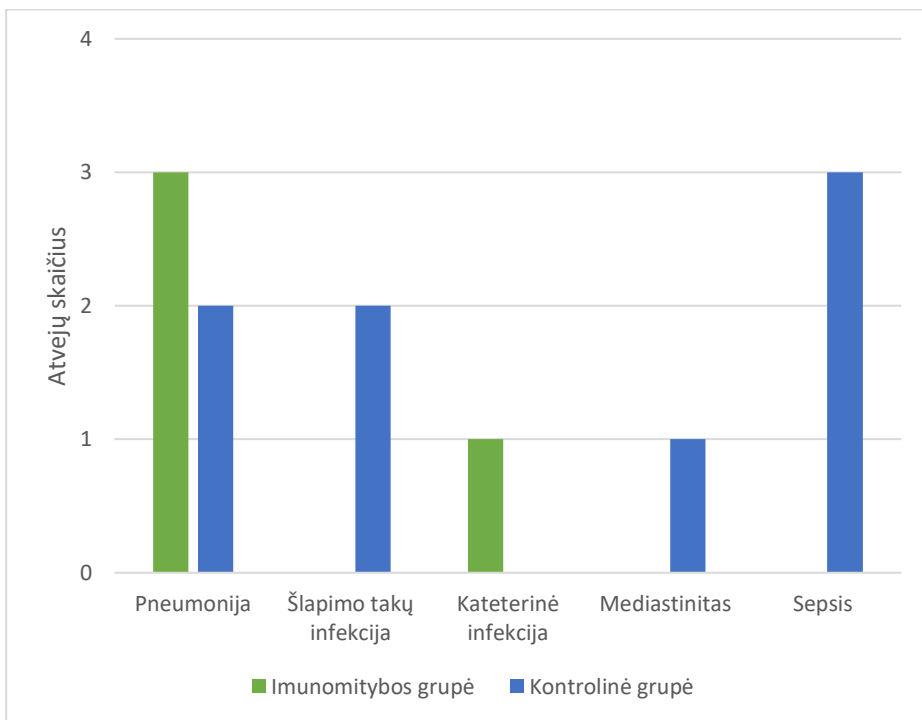
statistiškai reikšmingo skirtumo nebuvo rasta. Klinikinių baigčių pagal STS kriterijus pasiskirstymas grupėse vaizduojamas 12 paveiksle.



12 paveikslas. Klinikinių baigčių pagal STS kriterijus pasiskirstymas grupėse

4.5.1.2. Pooperacinės infekcinės komplikacijos

Vertinant kliniškes baigtis pagal STS kriterijus, infekcinės komplikacijos buvo nustatytos 8 pacientams (4-iems imunomitybos grupės ir 4-iems kontrolinės grupės). Dažniausios infekcinės komplikacijos buvo šios: penki pneumonijos atvejai (3 atvejai imunomitybos grupėje, 2 – kontrolinėje grupėje), du šlapimo takų infekcijos atvejai (visi kontrolinėje grupėje), vienas kateterinės infekcijos atvejis (imunomitybos grupėje), vienas mediastinito atvejis (kontrolinėje grupėje) ir trys sepsio atvejai (visi kontrolinėje grupėje). Statistiškai reikšmingo infekcinių komplikacijų dažnio skirtumo tarp tiriamų grupių nebuvo nustatyta. Verta paminėti, kad šie visi infekcinių komplikacijų atvejai nėra skirtingų ligonių. Iš trijų sepsio atvejų vienas buvo su mediastinitu (kontrolinė grupė), vienas su pneumonija (kontrolinė grupė) ir vienas su pneumonija ir šlapimo takų infekcija (kontrolinė grupė). Duomenys pateikiami 13 paveiksle.



13 paveikslas. Infekcinių komplikacijų dažnis

4.5.1.3. Inkstų funkcijos pažeidimas

Kreatinino koncentracija, kaip rekomenduoja STS klinikinių baigčių registrai, pacientams buvo stebima per visą hospitalizacijos laiką – fiksuoti ir vertinti blogiausi inkstų funkcijos rodikliai. Pagal šias surinktas kreatinino koncentracijos reikšmes skaičiuotas kreatinino klirensas ir glomerulų filtracijos greitis. Buvo gautas statistiškai reikšmingas skirtumas: pooperacinis kreatinino klirensas kontrolinėje grupėje buvo statistiškai reikšmingai mažesnis. Imunomitybos grupėje vidurkis $77,07 \pm 23,9$ ml/min, kontrolinėje grupėje – $63,43 \pm 23,31$ ml/min, $p = 0,037$ (žr. 14 paveikslą).

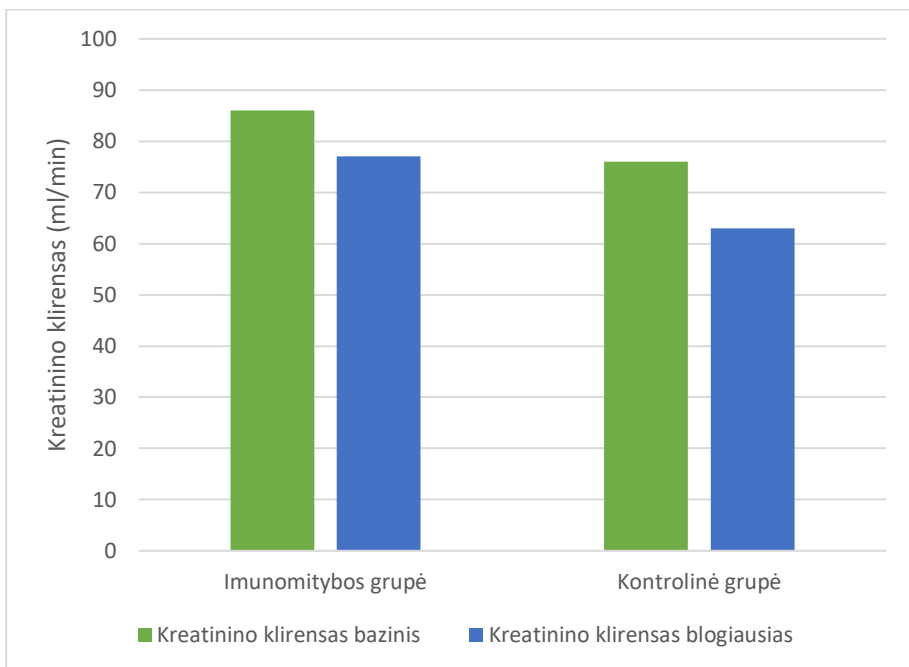
Vertinant glomerulų filtracijos greičius, po operacijos didesnis vidurkis ($68,59 \pm 23,21$ vs $58,46 \pm 20,00$) buvo imunomitybos grupėje, tačiau šis skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas. Duomenys pateikiami 20 lentelėje.

Pakaitinės inkstų terapijos reikėjo vienam pacientui, jis priklausė kontrolinei grupei.

20 lentelė. Kreatinino, kreatinino klirenso ir glomerulų filtracijos greičio vidurkiai grupėse

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Kreatininas, bazinis (μmol/l)	81,48 ± 23,96	81,71 ± 19,57	0,969
Kreatininas, max (μmol/l)	95,89 ± 40,56	111,07 ± 62,68	0,293
Kreatinino klirensas, bazinis (ml/min)	86,26 ± 25,04	76,54 ± 21,21	0,126
Kreatinino klirensas, blogiausias (ml/min)	77,07 ± 23,90	63,43 ± 23,31	0,037
GFG, bazinis (ml/min/1,73 m ²)	76,59 ± 17,10	73,86 ± 14,38	0,523
GFG, blogiausias (ml/min/1,73 m ²)	68,59 ± 23,21	58,46 ± 20,00	0,088

Kreatininas, bazinis – tai kreatinino koncentracija, kuri buvo nustatyta pacientui prieš operaciją; Kreatininas, max – didžiausia hospitalizacijos metu nustatyta kreatinino koncentracija; Kreatinino klirensas, bazinis – kreatinino klirensas, kuris buvo nustatytas pacientui prieš operaciją; Kreatinino klirensas, blogiausias – blogiausias kreatinino klirensas hospitalizacijos metu; GFG, bazinis – glomerulų filtracijos greitis, nustatytas pacientui prieš operaciją; GFG, blogiausias – blogiausias visos hospitalizacijos metu nustatytas glomerulų filtracijos greitis.



14 paveikslas. Bazinio ir blogiausio kreatinino klirenso vidurkiai tiriamosiose grupėse

Inkstų pažeidimas buvo vertintas pagal RIFLE kriterijus. Pažeidimo lygis nustatomas pagal kreatinino klirensą, glomerulų filtracijos greitį ar išskiriamo šlapimo kiekį, o baigčių klasės vertinamos pagal prarastą inkstų funkcijos trukmę.

Remiantis šia klasifikacija, mūsų tiriamiesiems 11 atvejų buvo atsiradusi inkstų pažeidimo rizika (2 atvejai imunomitybos grupėje ir 9 atvejai kontrolinėje grupėje, $p=0,023$) ir 5 pacientams nustatytas inkstų pažeidimas (2 atvejai imunomitybos grupėje, 3 atvejai kontrolinėje grupėje, $p = 0,673$). Norint įvertinti bendrą po operacijos sutrikusios inkstų funkcijos atvejų skaičių, buvo susumuoti rizikos ir inkstų pažeidimo atvejai ir gautas reikšmingas skirtumas: imunomitybos grupėje 4 atvejai, kontrolinėje grupėje 12 atvejų, $p = 0,023$. Duomenys pateikiami 21 lentelėje.

21 lentelė. Inkstų pažeidimo lygis pagal RIFLE kriterijus grupėse

RIFLE kriterijai	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Rizika, n (%)	2 (7,4)	9 (32,1)	0,023
Pažeidimas, n (%)	2 (7,4)	3 (10,7)	0,673
Nepakankamumas, n (%)	0 (0)	0 (0)	
Rizika + pažeidimas, n (%)	4 (14,8)	12 (42,9)	0,023

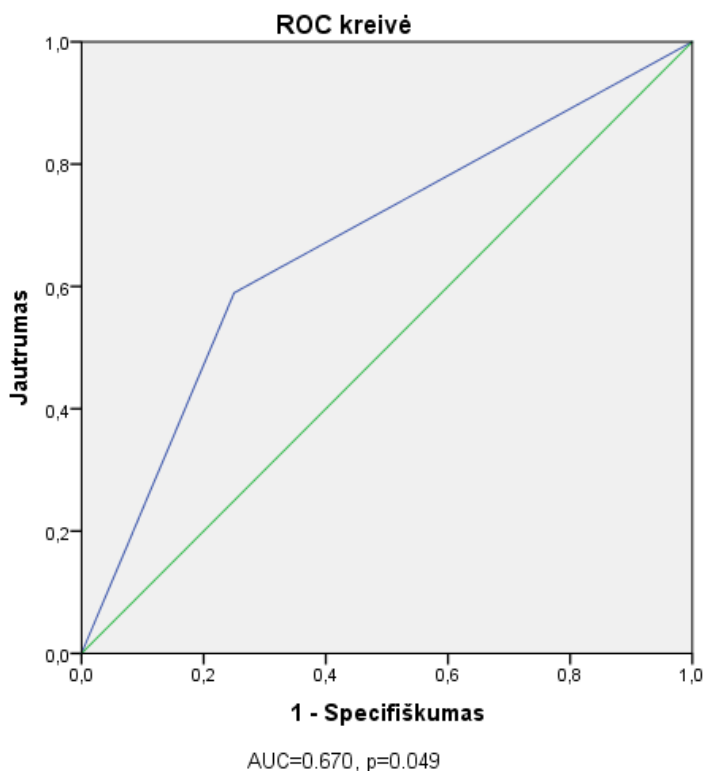
4.5.1.3.1. Logistinė regresija

Ryšiu tarp imunomitybos ir inkstų funkcijos pažeidimo rizikos įvertinti buvo sudarytas logistinės regresijos modelis. Atlikta jo analizė ir nustatyta, kad sudarytas modelis teisingai klasifikuoja 70,91 % reikšmių. Nagelkerkės R^2 lygus 0,134. Tikėtinumo santykio p-reikšmė yra 0,02, kas rodo, kad modelis gerai aprašo duomenis. Modelio rezultatai pateikiami 22 lentelėje.

22 lentelė. Logistinės regresijos modelio rezultatai vertinant ryšį tarp imunomitybos ir inkstų funkcijos pažeidimo rizikos

	Koeficientas	Standartinė paklaida	Valdo kriterijaus reikšmė	P reikšmė	Galimybių santykis
Glutaminas	1,462	0,663	4,862	0,027	4,312
Konstanta	-1,749	0,542	10,426	0,001	

Iš lentelės duomenų matome, kad pacientui negavus glutamino galimybė atsirasti inkstų pažeidimui padidėja 4,312 karto. Modelio adekvatumą parodo ir ROC kreivės apribotas plotas, kuris lygus 0,67 (žr. 15 paveikslą).



15 paveikslas. Logistinės regresijos modelio ROC kreivė

4.5.1.4. Pooperacinė gydymo trukmė ir pakartotinis perkėlimas į RITS

Dar viena vertinta klinikinė baigtis buvo gydymo trukmė bei pakartotinių perkėlimų į RITS dažnis. Buvo apskaičiuota bendra pacientų pooperacinio gydymo ligoninėje trukmė bei gydymo reanimacijos ir intensyviosios terapijos skyriuje (RITS) trukmė. Vidutinė gydymo RITS trukmė buvo labai panaši abiejose grupėse ir sudarė apie 2,5 dienas, o visos hospitalizacijos ligoninėje trukmės mediana abiejose grupėse buvo 13 dienų. Duomenys pateikiami 23 lentelėje.

23 lentelė. Gydomo RITS trukmė ir pakartotinė hospitalizacija į RITS

	Imunomitybos grupė, n = 27	Kontrolinė grupė, n = 28	P reikšmė
Gydymo trukmė RITS dienomis (vidurkis ± SD)	2,59 ± 1,60	2,46 ± 1,64	0,770
Bendra hospitalizacijos trukmė po operacijos dienomis (mediana [pirmas ir trečias kvartiliai])	13 [9; 15]	13 [9,5; 16]	0,576
Pakartotinė hospitalizacija į RITS, n (%)	1 (3,7)	5 (17,9)	0,095

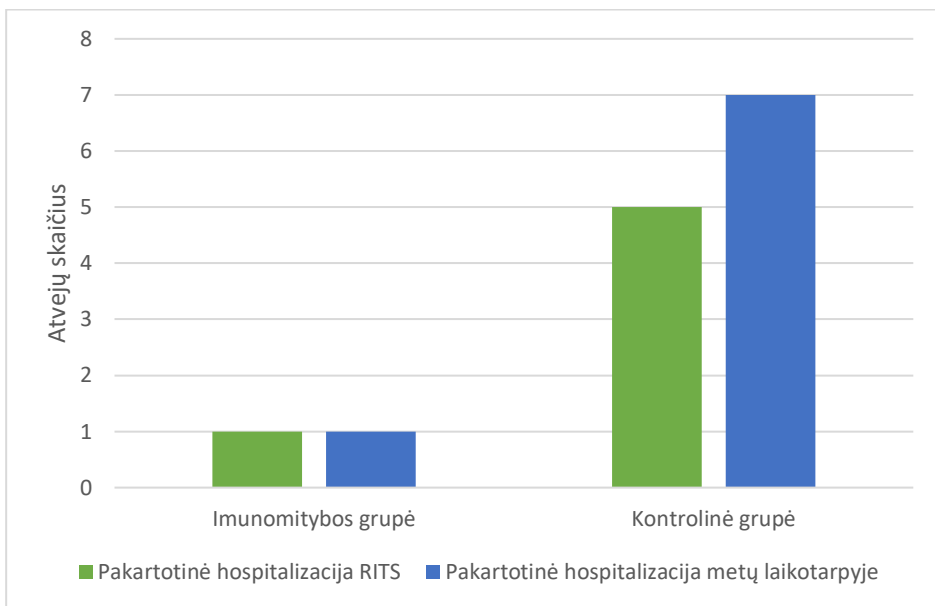
RITS – reanimacijos ir intensyviosios terapijos skyrius

Taip pat buvo įvertintas pakartotinis gydymas RITS tos pačios hospitalizacijos metu. Pakartotinė hospitalizacija į RITS buvo dažnesnė kontrolinės grupės pacientams (1 ir 5 atvejai), tačiau skirtumas nebuvo statistškai reikšmingas. Keturi pacientai pakartotinai į RITS buvo perkelti dėl širdies ritmo sutrikimo – prieširdžių virpėjimo (vienas iš jų priklausė imunomitybos grupei), vienas pacientas dėl hipotenzijos epizodo, kuris buvo koreguotas kristaloidų infuzija, ir vienas pacientas dėl išeminio insulto ir traukulių būklės. Pakartotinių hospitalizacijų į RITS dažnis pateikiamas 23 lentelėje ir 16 paveiksle.

4.5.2. Vėlyvosios baigtys

4.5.2.1. Pakartotinė hospitalizacija per metų laikotarpį

Vertinant pakartotines hospitalizacijas metų laikotarpiu po atliktos operacijos gauta, kad reikšmingai dažniau pakartotinių hospitalizacijų reikėjo kontrolinės grupės pacientams (1 ir 7 pacientai), $p = 0,026$ (žr. 16 paveikslą). Kadangi skirtumas buvo reikšmingas, nusprendėme detaliau panagrinėti šių hospitalizacijų priežastis. Per metus pakartotinai buvo hospitalizuoti 8 tiriamieji. Priežastys dažniausiai išsiskyrė, tendencijų nepastebėta. Imunomitybos grupei priklausęs pacientas hospitalizuotas dėl poūmės komplikotos nugaros smegenų degeneracijos, miopatijos, tetraparezės, sensorinės polineuropatijos. Visi kiti pacientai priklausė kontrolinei grupei: du pacientai pakartotinai hospitalizuoti dėl širdies nepakankamumo paūmėjimo, vienas – dėl ūminio koronarinio sindromo ir jam buvo stentuotos vainikinės kraujagyslės, vienas – dėl galvos smegenų infarkto, vienas – dėl reumatoidinio artrito paūmėjimo, vienas – dėl akies arterijos trombozės, vienas – dėl pleurito.



16 paveikslas. Pakartotinės hospitalizacijos į RITS ir per metų laikotarpį dažnis grupėse

4.5.2.2. Vienerių metų išgyvenamumas

Siekiant nustatyti imunomitybos naudą buvo vertinamas ir pacientų vienerių metų išgyvenamumas po operacijos. Per metus laiko po operacijos mirė keturi tyrime dalyvavę pacientai: vienas imunomitybos grupės ir trys kontrolinės grupės.

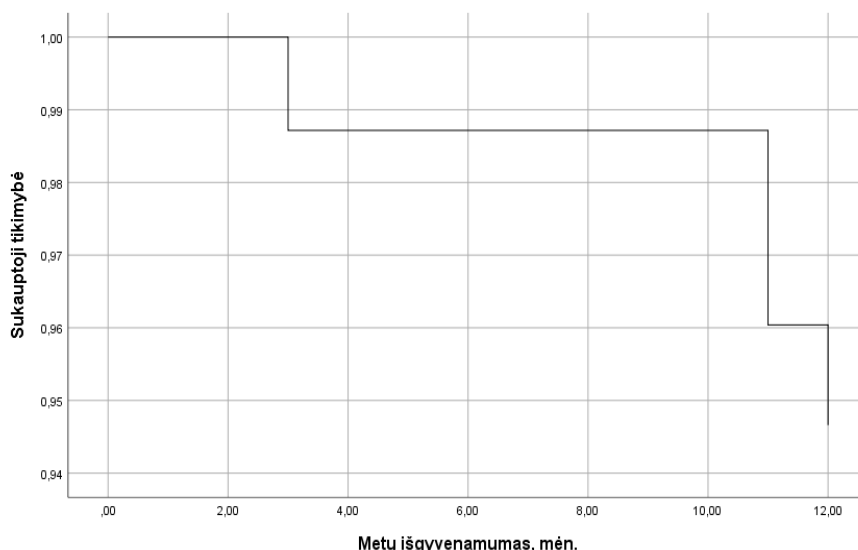
Išgyvenamumui vertinti buvo sudarytas Kokso proporcingos rizikos (angl. *proportional hazard*) modelis. Sudarant šį modelį yra lyginamos dviejų tiriamųjų grupių (mūsų atveju imunomitybos ir kontrolinės) rizikos funkcijos, imant jų santykį. Į modelį galima įtraukti ir kelis kintamuosius. Rizikos funkcija – tai tikimybė pasiekti galutinį tašką (pvz. mirtį ir pan.) laiko momentu, atsižvelgiant į tai, kad individas nepasiekė šio taško iki minėto laiko momento. Į modelį įtraukėme tris kintamuosius: amžių, imunomitybą ir pooperacinę inkstų funkcijos pažeidimą pagal RIFLE kriterijus (Risk + Injury). Gautą modelį pateikiame 24 lentelėje, išgyvenamumo kreivės grafiką – 17 paveiksle.

24 lentelė. Kokso proporcingos rizikos modelis metų išgyvenamumui vertinti

	Koeficientas B	Standartinė paklaida	Valdo kriterijaus reikšmė	p-reikšmė	Exp(B)	95 % Exp(B) pasikliautinas intervalas
Glutamino vartojimas	0,716	1,212	0,349	0,555	2,046	(0,190; 21,993)
Amžius	0,102	0,113	0,823	0,364	1,108	(0,888; 1,382)
Rizika + pažeidimas*	-0,722	1,054	0,469	0,493	0,486	(0,062; 3,834)

*Poooperacinė inkstų funkcija pagal RIFLE kriterijus

Deja, iš gautų rezultatų matome, kad nėra pagrindo teigti, kad minėti kintamieji turi įtakos pacientų išgyvenamumui, nors iš aprašomosios statistikos matome, kad glutamino nevartojusių pacientų grupėje per metus mirė daugiau žmonių. Panašiai galima matyti ir iš grafiko. Laikui bėgant tikimybė išgyventi mažėja



17 paveikslas. Kokso proporcingos rizikos modelio išgyvenamumo kreivė

5. REZULTATŲ APTARIMAS

Širdies operacija sukelia ligoniams intensyvių uždegiminių atsaką dėl daugelio veiksnių, įskaitant mechaninį chirurginį sužalojimą, kraujo netekimą ir perpylimą, išemijos-reperfuzijos sindromą ir kraujo sąlytį su dirbtiniais paviršiais DKA metu. Imuninio atsako valdymas širdies chirurgijoje yra aktuali tema, nes tai turi tiesioginę įtaką ligonių baigtims po operacijos (40). STS ir didelių širdies chirurgijos centrų ataskaitos bei publikuotos studijos rodo, jog dėl didžiulės technologinės pažangos, pagėrėjusių žinių bei naujų metodikų ankstyvasis mirštamumas po širdies operacijų vis mažėja, tačiau sergamumas ir vėlyvasis mirštamumas išlieka gana aukštas (12, 13, 19). Ši fenomeną lemia ir tai, jog dėl pagėrėjusio intervencinės kardiologijos prieinamumo bei naujų kardiologinio gydymo metodikų kardiochirurginiais pacientais tampa vis senesni ir daugiau gretutinių ligų turintys pacientai (233). Taigi terminas „trapumas“ tapo labai aktualus širdies chirurgijoje. Ši koncepcija savaime yra susijusi su padidėjusia negalios ir sergamumo rizika po operacijos (236).

Vienas iš galimų būdų, kaip skatinti tinkamą imuninį atsaką, didinti fiziologinį rezervą bei atsparumą perioperaciniams stresoriams, yra imuninė mityba aminorūgščių ir antioksidantų pagrindu. Nors dauguma ekspertų ir praktikuojančių gydytojų pritaria, kad tai galėtų būti naudinga šiems ligoniams (292), vos keletas studijų yra publikuota šia tema (34, 35, 276, 290). Viena paskelbta studija gavo teigiamus priešoperacinės imunomitybos glutaminu rezultatus visiems tiriamiesiems (290), o kita studija iškėlė prielaidą, jog perioperacinė kardiochirurginių ligonių imunomityba glutaminu gali turėti teigiamą poveikį tik tiems ligoniams, kuriems yra nustatytas glutamino trūkumas (276).

Šioje disertacijoje aprašoma studija, mūsų žiniomis, yra pirmoji, tyrinėjanti pooperacinės peroralinės imunomitybos glutamino ir antioksidantų pagrindu poveikį kardiochirurginių ligonių imuninei sistemai bei ankstyvosioms ir vėlyvosioms baigtims po operacijos. Tai aktuali tema, kadangi pooperacinė imunomityba, kaip homeostazę stabilizuojantis ir baigtis gerinantis veiksnys, galėtų būti laisvai pritaikoma kasdienėje praktikoje. Dauguma planinių kardiochirurginių ligonių yra ruošiami operacijai ambulatoriškai ir stacionarizuojami tik dieną prieš operaciją arba operacijos dieną, todėl priešoperacinę ar perioperacinę imunomitybą taikyti būtų sudėtinga ir tam reikėtų papildomų žmogiškųjų ir finansinių išteklių.

Vertinant tyrimo rezultatus svarbu žinoti, jog abi tyrimo grupės (IM ir K) prieš operaciją nesiskyrė nei pagal demografinius, laboratorinius rodiklius ar gretutinių ligų skaičių, nei pagal jas atspindinčių skalių įverčiais – randomizacija tikrai pavyko. Taip pat paminėtina, jog prieš vertindami rezultatus mes atkreipėme dėmesį ir į kitus veiksnius, galinčius turėti įtakos ligonių imuninės sistemos būklei ir baigtims, – į operacinius duomenis (operacijos trukmė, DKA, aortos užspaudimo laikas) bei operacijos metu ir po operacijos sunaudotų kraujo produktų kiekį. Panagrinėję pamatėme, jog abiejose grupėse tiriamieji buvo labai panašiai pasiskirstę tiek pagal operacijos tipą, tiek pagal kitus išvardytus parametrus, todėl galime teigti, jog gauti skirtumai tarp grupių nėra nulemti skirtingo intensyvumo imuninės sistemos stimuliavimo perioperaciniu ar ankstyvuoju pooperaciniu laikotarpiu.

5.1. Specifinė tiriamųjų grupė

Nors yra paplitęs įsitikinimas, kad imuninė mityba gali būti naudinga tik prastai maitinamiems pacientams, neseniai paskelbti tyrimai parodė, kad ji gali būti vienodai naudinga tiek geros, tiek ir nepakankamos mitybos pacientams (292). Dėl šios priežasties mitybos nepakankamumo mes nevertinome. Kadangi bendrai paėmus pacientai, kuriems atliekamos širdies operacijos, yra gana heterogeniška grupė bei rezultatai labai priklauso nuo priešoperacinės ligonio būklės ir operacijos sėkmės, lieka neaišku, ar IM galėtų turėti teigiamą poveikį visiems ligoniams, kuriems atliekama širdies operacija, ar galbūt labiau atrinktoms pacientų grupėms. Siekdami eliminuoti nepalankios operacinės eigos tikimybę, visų pirma orientavomės į ligonius, kurie pagal prognostines skales turėtų mažą operacinę riziką. Taigi, mūsų įtraukimo į tyrimą kriterijai buvo sukurti siekiant atrinkti konkrečią kardiochirurginių pacientų grupę – mažos operacinės rizikos, tačiau trapius pacientus, turinčius išmatuotą mažesnę ląstelių gyvybingumą.

Rizikai įvertinti buvo naudojami validuoti širdies chirurgijos rizikos stratifikavimo įrankiai: EuroSCORE II ir STS klasifikatoriaus mirštamumo rizikos vertės procentais. Remiantis naujausiomis Europos kardiologų draugijos ir Europos širdies ir krūtinės chirurgijos asociacijos rekomendacijomis, visiems ligoniams, kuriems planuojama atlikti širdies operaciją, turėtų būti įvertinama rizika nors viena iš šių skalių, tačiau pageidautina abiem (10, 11). EuroSCORE II, rodančio kardiochirurginių ligonių mirštamumo riziką, reikšmės vidurkis mūsų pasirinktų ligonių kohortoje buvo $1,97\% \pm 0,8$ IM grupėje ir $1,99\% \pm 0,8$ K grupėje – mažiau

nei 2 %. Tai atitinka pasaulinę su širdies chirurgija susijusio mirštamumo riziką, kaip nurodyta Krūtinės ląstos chirurgų draugijos duomenų bazėje (12, 25). Pagal STS klasifikatorių, ankstyvojo mirštamumo rizikos vidurkis buvo atitinkamai 2,46 % IM grupėje ir 1,95% K grupėje. Tai taip pat priskiriama mažai mirštamumo rizikai po širdies operacijos (12, 25, 299). Kaip jau minėta, šių ligonių sergamumas, pagal STS statistiką (12), išlieka gana didelis ir tai yra aktuali problema, kuri daugiausia lemia jų gyvenimo kokybę ir vėlyvą išgyvenamumą po operacijos. Kaip minėta metodikos dalyje, STS skaičiuoklė leidžia apskaičiuoti pagrindinių galimų baigčių po širdies operacijos tikimybę per 30 dienų laikotarpį arba tos pačios hospitalizacijos kaip ir operacija metu. Dažniausiai pasitaikančių baigčių (inkstų funkcijos nepakankamumas, išeminis galvos smegenų infarktas, prailginta >24 valandų DPV, infekcinės komplikacijos, resternotomija, trumpa >7 parų hospitalizacija, ilga >14 parų hospitalizacija ir bendras sergamumas) tikimybės procentais neviršijo duomenų bazėje pateikto vidurkio, taigi galime teigti, jog šių ligonių operacinė rizika buvo maža. Šį faktą patvirtina ir tai, jog beveik trečdaliui ligonių ($29,5 \pm 13,29$ IM grupėje ir $31,22 \pm 15,13$ K grupėje) buvo apskaičiuota trumpos hospitalizacijos (iki 7 parų) po operacijos tikimybė. Tai yra specializuotos prognostinės skalės, sukurtos būtent širdies chirurgijai, atsižvelgiant į technologinę pažangą bei pagėrėjusias žinias ir šių ligonių gydymo galimybes. Tačiau, kaip minėta ankstesniuose skyriuose, kardiochirurginiai ligoniai pastaraisiais metais yra vis vyresni, turintys daugiau gretutinių ligų, t. y. galimai sumažėjusį fiziologinį rezervą, t. y. trapūs. Nė viena iš šių specializuotų prognostinių skalių nevertina baigčių tikimybės vėlyvesniu periodu, tarkim, po vienerių ar keleto metų. Taigi, norėdami detaliau įvertinti būtent šiuos ligonius, mes naudojome ir kitas skales, skirtas bendrai chirurgijai (pvz. fizinės būklės įvertinimas – ASA), taip pat sergamumo skales, naudojamas bendroje klinikinėje praktikoje (pvz. Charlson sergamumo indeksas (CCI)). Visi šie ligoniai priklausė ASA III klasei, o tai rodo, kad jie serga sunkia sisteminė liga, kuri sukelia funkcinių sutrikimų ir vidutiniškai didelę komplikacijų riziką (323). Pagal Charlson sergamumo indeksą, mūsų tirti abiejų grupių ligoniai buvo įvertinti po 3 balus, o tai rodo vidutinį sunkumą (297). Taigi galime teigti, kad nors pagal specializuotas prognostines skales šie ligoniai yra mažos rizikos, iš tiesų jie yra gana sunkūs pacientai ir trapumo sąvoka, vis populiarėjanti klinikinėje praktikoje, širdies chirurgijoje tampa vis aktualesnė. Trapumas laikomas sindromu, kuriam būdingas per didelis pažeidžiamumas streso veiksniais ir sumažėjęs gebėjimas išlaikyti arba atkurti homeostazę po destabilizuojančio įvykio (264). Ši koncepcija yra susijusi su padidėjusia negalios ir sergamumo

rizika po operacijos, ypač po tokių didelių operacijų, kaip širdies chirurgija (236).

Norėdami objektyviai įvertinti šių pacientų patologinius pokyčius ląstelinio lygmeniu, kaip atrankos kriterijų pasirinkome bioelektrinės varžos analizės išvestinę – fazės kampo vertę (BIA FK). Tai naujas rizikos stratifikacijos metodas, atskleidžiantis ląstelės membranos būklę, hidrataciją ir bendrą paciento mitybą (246). Keletas tyrimų patvirtina, kad BIA FK gali būti naudojamas trapumo diagnostikai (246, 254) ir yra susijęs su neigiamais pooperaciniais rezultatais. Kadangi po daugelio bandymų diagnozuoti trapumą (238, 239, 240, 241, 242, 243) nė vienas metodas nebuvo pripažintas aukso vertės standartu (244) ir nėra tikslios fazės kampo vertės, pagal kurią būtų galima diagnozuoti trapumą kardiochirurginiams ligoniams, mes rėmėmės studijomis, atliktomis su kardiochirurginių bei kitų profilių pacientų grupėmis. Mes orientavomės į standartizuotą fazės kampo taikymo metodą, parinkdami vertę pagal amžių, lytį ir KMI, nes šie veiksniai apibrėžia normalų fazės kampą. Kadangi dauguma mūsų širdies chirurgijos centro pacientų yra nuo 60 iki 75 metų amžiaus ir jų KMI yra 25–30 kg/m², naudojome Westphal ir kolegų (256) sudarytą duomenų bazę ir joje pateiktas baltaodžių populiacijos pamatines vertes, pagal jas apskaičiavome vidutinę fazės kampo reikšmę – 5,57°. Tanaka ir kt., (245), ištyrę pacientus, kuriems nebuvo atlikta širdies operacija, išsiaiškino, kad esant BIA FK vertei <5,5° trapumas gali būti nustatytas kitais žinomais metodais – naudojant Friedo trapumo indeksą ir Rockwoodo klinikinio trapumo skalę. Kito tyrimo duomenimis, FK <5,38° yra susijęs su nepakankama mityba ir neigiamais klinikiniais padariniais po širdies operacijos (252). Taigi, remdamiesi šiais publikuotais tyrimais, mes kaip ribą ir atrankos kriterijų pasirinkome BIA azės kampo reikšmę 5,5.

Iš 517 į tyrimą įtrauktų ligonių, kurie priklausė mažai mirštamumo po operacijos rizikai, tik 87 ligonių BIA FK buvo <5,5, tai sudarė 14,4 % visų tiriamųjų. Taigi taip buvo suformuota specifinė tiriamųjų kohorta – mažos operacinės rizikos, tačiau trapių ligonių, kurie atsitiktine tvarka buvo suskirstyti į IM ir K grupes.

BIA FK vertės tiriamųjų kohortoje varijavo tarp 4,18° (mažiausia vertė) ir 5,48° (didžiausia vertė), o vidurkis visoje kohortoje buvo 5,09°, atitinkamai 5,2 [5,04–5,32] IM grupėje ir 5,11 [4,72–5,30] K grupėje. Išanalizavę šiuos duomenis bei atsižvelgdami į jau minėtas paskelbtas publikacijas šia tema, galime teigti, jog šią specifinę kohortą sudariusių ligonių grupė buvo gana homogeniška ir ląstelių gyvybingumo atžvilgiu – nebuvo didelio išsibarstymo,

taip pat nebuvo ligonių, turinčių kraštutines žemas vertes, kas galėtų savaime rodyti blogą baigtį po operacijos.

Pažymėtina, jog buvo analizuojami duomenys tik tų ligonių, kurie atitiko visus tyrimo kriterijus (kartu ir susijusius su operacijos eiga bei perioperacine būkle) ir iki galo laikėsi nustatyto IM plano (reikiamais intervalais išgėrė visą nustatytą IM dozę). Mitybos režimo nesilaikymas buvo pagrindinė pašalinimo iš tyrimo priežastis IM grupėje ir tai sudarė 29,5 % visų tiriamųjų. K grupėje pagrindinė pašalinimo iš tyrimo priežastis buvo perioperacinės aplinkybės.

5.2. Bendrųjų laboratorinių tyrimų vertinimas šeštą pooperacinę parą

Kadangi tai yra pooperaciniai ligoniai, o širdies operacijos yra priskiriamos didelės apimties operacijoms, sukeliančioms didesnę nukraujavimo riziką, hemoglobino bei hematokrito ir trombocitų pokyčių įvertinimas po operacijos praėjus 5 dienoms yra svarbus veiksnys tiek vertinant imuninės sistemos pokyčius, tiek baigtis. Šeštą parą po operacijos nebuvo pastebėta reikšmingų skirtumų tarp grupių ir vidurkiai atitiko normos ribas, tai rodo, jog anemija ar trombocitų pokyčiai po operacijos neturėtų daryti įtaką imuniniams pokyčiams ar baigtims. Kaip jau minėjome, pagal kraujo komponentų panaudojimą po operacijos reikšmingų skirtumų tarp grupių taip pat nepastebėta.

Kreatininas bei kreatinino klirensas buvo vertinti kaip inkstų funkciją atspindintys rodikliai. Šeštą parą po operacijos abiejose grupėse tiek kreatinino koncentracijos, tiek kreatinino klirenso vidurkiai tarp grupių nesiskyrė.

5.3. Imunologinių tyrimų vertinimas šeštą pooperacinę parą

Bendrajame kraujo tyrime bei leukogramoje šeštą pooperacinę parą imuninių ląstelių kiekių vidurkiai (tiek absoliučiais skaičiais, tiek procentais) atitiko normos ribas ir nepastebėta jokių reikšmingų skirtumų tarp grupių.

CRB buvo vertintas kaip ūmios fazės baltymas – atrankinis nespecifinio sisteminio uždegiminio atsako žymuo, žymintis septinį ar aseptinį audinių pažeidimą (324). Abiejose grupėse jo kiekis buvo padidėjęs, tačiau lyginant vidurkius reikšmingo skirtumo tarp grupių nenustatyta, abiejose grupėse buvo padidėjęs tolygiai – atitinkamai $80,57 \pm 57,47$ IM grupėje ir $69,21 \pm 34,01$ K grupėje. Kaip jau buvo minėta, CRB pradamas gaminti praėjus 6–12 valandoms nuo infekcijos pradžios (325), o didžiausia koncentracija pasiekama praėjus 24–72 valandoms. CRB pusinės eliminacijos laikas yra 19

valandų (324). CRB yra jautrus infekcijos žymuo, tačiau labai mažo specifiskumo – šio ūmios fazės baltymo koncentracija kraujyje gali labai padidėti esant didelės apimties operacijos sukeltam aseptiniam uždegimui lygiai taip pat ar netgi daugiau nei esant bakterinei infekcijai (92). Kardiochirurginių ligonių tyrimais taip pat parodė, jog pooperacinis CRB kiekio padidėjimas labiau susijęs su operacijos sukeltu imuniniu atsaku ir hipoperfuzija, nei su bakterine infekcija (326, 327). Sarah L. Gans su kolegomis apžvelgė 22 studijas (16 iš jų įtraukė į metaanalizę) (328), nagrinėjančias, kokia gi galėtų būti CRB vertė, kuri, atsižvelgiant į mažą šio baltymo specifiskumą, rodytų pooperacinę infekciją po didelės apimties pilvo operacijų. Šios publikacijos išvada buvo tokia: trečią pooperacinę parą CRB koncentracijai esant mažesnei nei 159 mg/dl, infekcinė komplikacija yra mažai tikėtina ir tokio lygio pakilimą galima vertinti kaip liekamąjį, sukeltą aseptinio uždegiminio atsako po operacijos. Taigi, remiantis šiais duomenimis ir tuo, jog mes nepastebėjome jokių kitų infekcijos požymių (nei klinikių, nei laboratorinių), šį CRB koncentracijos pakilimą vertinome kaip širdies operacijos su DKA sukulto aseptinio uždegimo liekamąją išraišką.

5.3.1. T ląstelių pokyčių vertinimas

Rezultatai, gauti analizuojant T ląstelių pokyčius, patvirtino mūsų hipotezę, jog imunomityba gali turėti teigiamą įtaką ląsteliniam imunitetui. Reikšmingas absoliutaus limfocitų skaičiaus skirtumas buvo pastebėtas šeštą dieną po operacijos; nustatyta, kad tiek CD3+ T, tiek CD4+ T ląstelių skaičius IM grupėje buvo daug didesnis – atitinkamai 18 % ir 24 %, palyginti su K grupe. Kalbant apie CD8+ ląstelių pokyčius – reikšmingo skirtumo tarp grupių nepastebėta.

Turint omenyje, kad mūsų tyrimo imties dydis nebuvo didelis, prieš operaciją buvo nustatytas labai platus imuninių ląstelių išsibarstymas kohortoje. CD3+ T ląstelių skaičius svyravo nuo 0,35 ($\times 10^9/l$) iki 3,57 ($\times 10^9/l$). Tiesą sakant, kai kuriems pacientams jau prieš operaciją buvo antrinis ląstelinis imunodeficitas – 45,45 % pacientų absoliutus T limfocitų skaičius buvo mažesnis nei standartinis, tai yra mažesnis nei 1,10 ląstelių ($\times 10^9/l$). Tai tik patvirtina hipotezę, jog mūsų ligoniai, nors pagal standartizuotas prognostines skales yra mažos rizikos, tačiau trapūs, t. y. jų ląstelių gyvybingumas yra sumažėjęs. Esama publikuotų tyrimų, kurie parodė, jog amžius neigiamai veikia imuninių ląstelių skaičių ir blogina jų funkciją (329). Taip pat yra publikacijų, rodančių, jog trapių ir netrapių tiriamųjų bendras limfocitų ir T ląstelių skaičius panašus, tačiau vertinant atskirai CD8+ ir CD4+ ląstelių

skaičių buvo nustatytas reikšmingai padidėjęs CD8+ ir reikšmingai sumažėjęs CD4+ ląstelių skaičius trijų ligonių kraujyje, palyginti su netrapiais (330), ir tai buvo susiję su susilpnėjusiu imuniniu atsaku bei imlumu infekcinėms komplikacijoms.

T limfocitai, arba T ląstelės, yra pagrindinis specifinio ląstelinio imuniteto komponentas. Jos skiriasi viena nuo kitos tokių unikalių ląstelių paviršiaus žymenų kaip CD4+ (pagalbinės T ląstelės) ir CD8+ (citotoksinės T ląstelės) ekspresija. Naivosios CD4+ Th0 ląstelės yra efektorinių Th1, Th2, Treg, Th17 ląstelių pirmtakai. Skirtingi CD4+ T pagalbininkių ląstelių pogrupiai yra specifinio imuninio atsako organizatoriai, nes gali suaktyvinti tam tikrą imuninę grandinę, tinkamiausią kovoti su konkrečia grėsme (331). Vienas iš ankstyviausių žymenų, rodančių limfocitų aktyvaciją, yra CD69+, kuris yra pradedamas ekspresuoti beveik visų aktyvuotų T ląstelių pogrupių membranose iš karto po aktyvinimosi (146). Kaip jau minėta, po aktyvacijos naivosios CD4+ T ląstelės diferencijuojasi į Th1, Th2, Th17 ir Treg ląsteles, turinčias skirtingas imunines funkcijas. Pavyzdžiui, Th1 ląstelės aktyvina makrofagus, NK ląsteles, neutrofilus ir atlieka svarbų vaidmenį nukreipdamos citotoksinį CD8+ imuninį atsaką prieš tarpląstelinius patogenus ir naviko ląsteles, Th2 ląstelės yra svarbios antikūnų gamybai, taip pat gamindamos priešuždegiminius citokinus slopina Th1 diferenciaciją bei kitų nespecifinio imuninio atsako ląstelių aktyvaciją. Th17 ląstelės sužadina uždegimą skatinančių citokinių ir chemokinių gamybą, taigi yra svarbios kovojant su bakterinėmis infekcijomis. Treg ląstelės atlieka pagrindinį vaidmenį reguliuojant imuninį atsaką ir apsaugant nuo autoimuninės ligos (331). Klinikinės studijos rodo, jog didelės apimties operacijos ir traumos sukelia selektyvų Th1 funkcijos slopinimą, atsiranda Th2 gaminamų citokinių modelio poslinkis ir yra slopinamas ląstelinis imunitetas. Taigi padidėja infekcinių komplikacijų rizika (41). Todėl mūsų tyrime pateikti CD4+ T ląstelių pokyčiai, kuriuos lemia imuninė mityba, turėtų būti naudingi šių pacientų klinicinei baigčiai.

Vertinant CD8+ ląstelių skaičių, reikšmingo skirtumo tarp grupių negauta, tačiau pastebėta tendencija, jog IM grupėje CD8+ ląstelių absoliutus skaičius buvo didesnis nei K grupėje ($0,4 \times 10^9/l$ vs $0,3 \times 10^9/l$, $p = 0,06$). Taigi, galime teigti, jog imunomityba glutamino pagrindu lėmė visų T limfocitų (tiek CD4+, tiek CD8+) kiekio padidėjimą.

Kitas rodiklis vertinant specifinį ląstelinį imunitetą yra CD4+/CD8+ santykis cirkuliuojančiame kraujyje. Nors jis svarbus vertinant ląstelinį imunitetą, visgi normalus CD4+/CD8+ santykis sveikiems žmonėms yra menkai apibrėžtas.

Esama didelio heterogeniškumo, nes įtakos gali turėti lytis, amžius, etninė kilmė, genetika ir infekcijos. Nepaisant to, dauguma studijų ir ekspertų sutinka, jog CD4/CD8 santykis tarp 1,5 ir 2,5 yra laikomas normaliu. Normalus santykis gali pakisti dėl izoliuotos apoptozinės, arba tikslinės, cirkuliuojančių CD4 ląstelių mirties, CD8 ląstelių skaičiaus padidėjimo arba abiejų reiškinų derinio. Sumažėjęs CD4/CD8 santykis yra susijęs su pakitusiomis imuninėmis reakcijomis, imuninės sistemos senėjimu, trapumu bei didesniu imlumu infekcinėms komplikacijoms (332). Tai gali būti didesnio sergamumo ir mirštamumo progostinis žymuo. Nenormalus, t. y. arba padidėjęs, arba sumažėjęs, CD4/CD8 santykis yra būdingas ir autoimuninėmis ligomis sergantiems žmonėms (333, 334). CD4/CD8 santykis žymi ląstelinio imuniteto ląstelių pusiausvyrą ir jos išlaikymas normos ribose yra svarbus imuninio atsako reguliavimui.

Nepaisant CD4+ T limfocitų statistiškai reikšmingo padaugėjimo IM grupėje, CD4+/CD8+ santykis šių ligonių periferiniame kraujyje atitiko normos ribas ir buvo 2,28 (K grupėje – 2,47). Manome, jog šį T ląstelių pusiausvyras išlaikymą lėmė tai, jog IM grupėje padidėjo ne tik CD4+ ląstelių, bet ir CD8+ T limfocitų skaičius, nors šis padidėjimas ir nebuvo statistiškai reikšmingas.

Studijos, tyrinėjusios imuninį atsaką po širdies operacijų, parodė, jog absoliutaus limfocitų skaičius, ypač T ląstelių populiacijoje, reikšmingai sumažėja (218). Kitų studijų autoriai teigė, jog ligoniams po širdies operacijų yra būdinga leukocitozė, tačiau panagrinėjus giliau paaiškėjo, kad leukocitozę sudaro nespecifinio imuniteto ląstelės (pvz. neutrofilai) ir nesubrendusios imuninės ląstelės (pvz. monocitai) o tiesiogiai ląstelinį imunitetą sudarančių CD4 ir CD8 ląstelių skaičius būna labai sumažėjęs (219, 220). Šie pokyčiai gali būti nustatomi netgi iki 3 mėnesių po operacijos su DKA (210), todėl kyla didesnė infekcinių komplikacijų rizika. Studijose netgi nepastebėta skirtumų tarp skirtingų tipų operacijų (lygintos vožtuvų operacijos su koronarinių jungčių suformavimo operacijomis) (221). Mūsų atlikto tyrimo ir minėtų studijų rezultatai patvirtina hipotezę, jog imunomityba glutamino bei vitaminų ir antioksidantų pagrindu turi teigiamą įtaką kardiokirurginių ligonių imuninio atsako galimybės tinkamai reaguoti į galimas grėsmes.

Tačiau gavus šiuos rezultatus iškilo daugiau klausimų. Vienas jų – ar šis T limfocitų skaičiaus padidėjimas yra susijęs su didesne jų aktyvacija, t. y. ar šie „nauji“ naivieji T limfocitai (Th0) virto efektorinėmis T ląstelėmis?

5.3.2. T ląstelių aktyvacijos vertinimas *in vitro*

T ląstelių aktyvacijai vertinti mes pasirinkome žymenį CD69+ dėl jo ankstyvos ekspresijos visų T ląstelių potipių paviršiaus membranose po aktyvacijos, sukeltos tam tikro trigerio. CD69 ekspresija T limfocitų paviršiuje gali būti nustatyta praėjus 2–3 valandoms po stimuliacijos (146), todėl jį yra patogu tirti *in vitro*. Šį žymenį pasirinkome kaip atrankinį, atsižvelgdami į tai, kad nesant didesnės CD69+ ekspresijos IM grupėje, užtikrintai galima daryti prielaidą, kad T ląstelių aktyvacija ir diferenciacija į jų potipius greičiausiai neįvyko. CD69+ yra membraninis receptorių, turintis labai mažą ekspresiją T limfocituose ramybės būsenoje, tačiau aktyvuojant T ląsteles jis greitai atsiranda aktyvuotų T limfocitų membranų paviršiuje (335) ir tiesiogiai dalyvauja sudėtingame T limfocitų diferenciacijos procese, tiek veikdamas citokinų sintezę, tiek reguliuodamas maisto medžiagų patekimą į T limfocitus ir taip tiesiogiai nulemdamas patį procesą. CD69+ taip pat lemia aktyvuotų limfocitų migracines savybes (angl. *homing*). Tiesiogiai veikdamas pačią diferenciaciją į skirtingus efektorinių T ląstelių potipius, CD69+ reguliuoja ir moduliuoja imuninį atsaką bei apsaugo nuo hiperaktyvacijos (146). Daug CD69+ funkcijų yra tyrinėjamos ir nėra lig šiol iki galo aiškios, tačiau akivaizdu tai, jog specifinio ląstelinio imuninio atsako aktyvavimas ir T ląstelių aktyvacija be CD69+ ekspresijos labai mažai tikėtina.

Mūsų rezultatai parodė, kad po 5 dienų pooperacinės imunomitybos glutaminu ir antioksidantais IM grupėje nei CD4+CD69+ (CD4+ ląstelių, paviršiuje turinčių CD69+), nei CD8+CD69 (CD8+ ląstelių, paviršiuje ekspresuojančių CD69+) nebuvo didesnis nei K grupėje, atitinkamai medianos CD4+CD69+: 0,25 [0,16; 0,50] IM grupėje vs 0,22 [0,13; 0,41] K grupėje, $p = 0,578$, ir CD8+CD69+: 0,13 [0,06; 0,3] IM grupėje vs 0,09 [0,05; 0,14] K grupėje, $p = 0,178$.

Nors IM grupėje 6-ą parą ir buvo pastebėtas statistiškai reikšmingas CD4+ padaugėjimas bei CD8+ padaugėjimo tendencija, tačiau T limfocitų aktyvacija šioje grupėje nebuvo didesnė nei kontrolinėje. Turint omenyje aprašytą imuninio atsako formavimąsi ir jau žinomus patofiziologinius mechanizmus, tą galima paaiškinti tuo, jog aktyvacija buvo dirbtinai imituojama *in vitro* stimuliuojant fitomutagenu ir abiejų grupių (IM ir K) ląstelių grupės buvo stimuliuojamos tokiu pačiu fitomutageno kiekiu, taigi aktyvacija buvo proporcinga stimuliacijai ir dėl to, nepaisant didesnių ląstelinio imuniteto galimybių IM grupėje (buvo reikšmingai padidėjęs T limfocitų skaičius), hiperaktyvacijos nebuvo, t. y. jie aktyvavosi atitinkamai

grėsmės lygiui. Dėl imunomitybos naujai atsiradę T limfocitai neiškreipė imuninio atsako, tačiau padidėjęs T limfocitų skaičius, tikėtina, pagerino T limfocitų migracines savybes ir galimybes greičiau reaguoti į potencialų pavojų.

5.3.3. Citokinai ir prokalцитoninas

Kitas klausimas, į kurį norėjome atsakyti šio tyrimo metu, buvo toks: kokią įtaką imunomityba glutamino ir antioksidantų pagrindu turi sisteminio uždegiminio atsako sindromui, kurį, publikuotų studijų duomenimis (40, 41, 336), širdies operacija su DKA neišvengiamai sukelia. Kadangi yra žinoma, jog operacijos sukulto nespecifinio imuninio atsako prouždegiminę fazę dažnai lydi antiuždegiminė fazė, mes nespecifiniam imuniniam atsakui vertinti pasirinkome IL-6, TNF- α (uždegimą skatinantys citokinai) ir IL-10 (uždegimą slopinantis citokinas). Nustatę CRB pakilimą abiejose grupėse, subklinicinei bakterinei infekcijai atmesti vertinome ir abiejų grupių pacientų prokalцитonino (PCT) koncentraciją kraujyje. Yra publikuotų studijų (224), analizavusių imuninės sistemos pokyčius po didelės apimties operacijų (ne širdies chirurgijos). Jų duomenimis, nespecifinio imuninio atsako žymenys grįžta į normalias reikšmes po 5 parų, tačiau ląstelinio imuniteto slopinimas gali likti netgi iki 12 savaičių po operacijos. Remiantis kardiochirurginių ligonių tyrimais pateikiamos tokios išvados: didžiausia uždegimą skatinančių citokinų koncentracija būna 3-ią parą po operacijos, tačiau duomenys apie tai, kada normalizuojasi nespecifinio imuninio atsako žymenys, yra prieštaringi (337, 338). Taip pat nėra vienos nuomonės, kokią įtaką turi nespecifinio imuninio atsako aktyvumas kūno organų pažeidimui po širdies operacijų (338). Todėl, remdamiesi visomis šiomis publikacijomis, mes ir pasirinkome vertinti nespecifinį imuninį atsaką 6-ą parą po operacijos, atsižvelgdami į imunomitybos glutamino ir antioksidantų pagrindu poveikį šiai imuninei grandžiai.

Vertinant citokinų koncentracijas 6-ą parą po operacijos, skirtumų tarp grupių nenustatyta. Tai rodo, jog imunomityba glutamino ir antioksidantų pagrindu neturėjo įtakos sisteminio uždegiminio atsako formavimuisi ir reguliavimui.

TNF- α ir IL-10 atitiko normos ribas abiejose grupėse. IL-6 buvo tolygiai padidėjęs abiejose grupėse, atitinkamai medianos 14,65 [9,28; 18,95] IM ir 12,25 [8,55; 22,50] K grupėse, $p = 0,786$. IL-6 – uždegimą skatinantis citokinas, kurį išskiria aktyvintos imuninės ląstelės, jis lemia CRB padaugėjimą. Šio citokino kraujyje gali padaugėti jau po 1 valandos nuo stimuliacijos pradžios. Tačiau jis yra labai nespecifinis, ir padidėjęs jo kiekis

gali būti randamas nepriklausomai nuo SUAS etiologijos. Publikuotų tyrimų duomenimis, mažiausia pasiūlyta IL-6 vertė, rodanti aktyvų SUAS, yra 35 ng/l (339), taigi šį padidėjimą, kaip ir CRB pokyčius 6-ą parą abiejose grupėse, mes vertinome kaip pačios operacijos sukulto nespecifinio imuninio atsako liekamąją išraišką, tuo labiau kad nebuvo jokio skirtumo tarp grupių – visoje tiriamųjų kohortoje šio citokino kiekis buvo padidėjęs vienodai. Šį mūsų vertinimą patvirtino ir tai, jog PCT reikšmės 6-ą parą po operacijos abiejose grupėse atitiko normos ribas. Dauguma studijų (97, 98, 99, 100) įrodė, kad PCT yra labai specifinis bakterinės infekcijos žymuo, kurio jautrumas ir specifiskumas yra atitinkamai 86,7 % ir 85,3 %.

Bendrai įvertinę gautų imunologinių tyrimų rezultatus, mes atmetėme hipotezę, kad CD4+ T ląstelių skaičiaus padidėjimas IM grupėje galėjo būti sukeltas subklinikinio septinio arba intensyvesnio aseptinio sisteminio uždegiminio atsako sindromo.

Kadangi nebuvo kitų veiksnių, galinčių inicijuoti ląstelinio imuninio atsako aktyvaciją, mūsų rezultatai rodo, kad būtent imuninė mityba, pagrįsta glutaminu ir antioksidantais, nulėmė statistiškai reikšmingą CD4+ T ląstelių skaičiaus padidėjimą organizme. Kaip jau minėta, šis padidėjimas nebuvo susijęs su didesne jų aktyvacija IM grupėje, CD4+ ląstelės aktyvinosi *in vitro* pagal fitomutageno kiekį. Taigi mes darome prielaidą, kad šis T limfocitų kiekio padidėjimas gali sustiprinti jų migracijos potencialą organizme ir taip padidinti jų gebėjimą atpažinti galimas grėsmes, kurioms įveikti reikalingas specifinis ląstelinis imuninis atsakas. Tai gali turėti daug įtakos tokių pacientų baigčiai bakterinių ar virusinių infekcijų atvejais.

5.4. Pooperacinės klinikinės baigtys

Buvo vertinamos ankstyvosios ir vėlyvosios klinikinės baigtys.

5.4.1. Ankstyvosios klinikinės baigtys

Ankstyvosios klinikinės baigtys buvo vertinamos remiantis STS pasiūlytomis dažniausiomis klinikinėmis baigtimis po širdies operacijų (320). Tai būtų mirštamumas, inkstų funkcijos nepakankamumas, išeminis galvos smegenų infarktas, prailginta DPV, infekcinės komplikacijos, resternotomija, trumpa hospitalizacija (<6 paros), ilga hospitalizacija (>14 parų), bendras sergamumas. Šios baigtys vertintos tos pačios kaip operacija hospitalizacijos metu arba 30 dienų laikotarpiu, jeigu ligonis buvo išrašytas iš stacionaro anksčiau.

Tos pačios hospitalizacijos metu nė vienas ligonis nemirė. Kitų STS pasiūlytų baigčių po širdies operacijų dažnis taip pat nesiskyrė. Tad galime daryti išvadą, jog imunomityba glutamino ir antioksidantų pagrindu bei padidėjęs CD4+ skaičius neturėjo įtakos STS pasiūlytų dažniausių baigčių po širdies operacijų išsivystymo dažniui šiai pacientų grupei (mažos operacinės rizikos, esant sumažėjusiam ląstelių gyvybingumui).

Kaip rekomenduoja STS klinikinių baigčių registrai, visos hospitalizacijos metu pacientams buvo stebima kreatinino koncentracija bei klinikiniai inkstų nepakankamumo požymiai. Fiksuota ir analizuota kreatinino reikšmė 6-ą parą (kaip aprašyta pirmiau) ir blogiausia reikšmė per visą hospitalizaciją. Taip pat buvo skaičiuoti ir analizuoti išvestiniai dydžiai – kreatinino klirensas (KK) bei glomerulų filtracijos greitis (GFG). Iš rezultatų matome, jog buvo gautas statistiškai reikšmingas KK skirtumas tarp grupių, atitinkamai vidurkiai 77,07 ml/min IM grupėje ir 63,43 ml/min K grupėje, $p = 0,037$. Vertinant GFG statistiškai reikšmingų skirtumų tarp vidurkių nebuvo, tačiau pastebėta mažesnio GFG tendencija K grupėje, atitinkamai vidurkiai 68,59 IM grupėje ir 58,46 K grupėje, $p = 0,088$. Suskirsčius ligonius pagal RIFLE klasifikaciją, buvo gautas statistiškai reikšmingas rizikos inkstų funkcijos nepakankamumui išsivystyti skirtumas tarp grupių, didesnė ši rizika buvo K grupėje. Sujungus ligonius, kuriems po operacijos buvo nustatyta rizika arba inkstų funkcijos pažeidimas hospitalizacijos metu ir atlikus logistinės regresijos analizę, paaiškėjo, jog ligoniams, kurie negavo glutamino, rizika pablogėti inkstų funkcijai ar išsivystyti jos nepakankamumui padidėja 4,3 karto ($p = 0,19$). Yra publikuotų studijų (340 <https://doi.org/10.1080/0886022X.2016.1227918>, 341, 342), kurių rezultatai parodė, jog glutaminas, sumažindamas išeminį-reperfuzinį pažeidimą, padėdamas atkurti imuninės sistemos balansą bei tiesiogiai dalyvaudamas ląstelės homeostazės palaikyme, padėjo išsaugoti inkstų funkciją ir inkstų pažeidimas buvo statistiškai reikšmingai mažesnis glutamino grupėje, palyginti su kontroline. Kalbant apie inkstų funkciją, svarbu paminėti tai, jog inkstai yra pagrindinis organas glutamino metabolizme, o glutaminas yra pagrindinis azoto donoras inkstams (343). Gliukoneogenezė iš glutamino taip pat pradedama inkstuose (343). Be kitų svarbių funkcijų, inkstai šalina glutamino skaidymo metu susidariusius toksiškus azoto junginius. Esant ūminiam IFN ar galutinės stadijos lėtiniam IFN, sutrinka visas glutamino metabolizmas, o besikaupiantis amoniakas yra toksiškas visam kūnui, kartu ir inkstams (344). Todėl, nors iš nesant labai pažengusiam IFN, glutaminas naudingas inkstams, tačiau esant galutinės stadijos IFN glutaminas kontraindikuojamas (345).

Kadangi gavome reikšmingai padidėjusį CD4+ ląstelių skaičių IM grupėje, tačiau *in vitro* T ląstelių aktyvacija abiejose grupėse nesiskyrė, mes norėjome įvertinti, ar skyrėsi infekcinių komplikacijų dažnis tarp grupių visos hospitalizacijos metu, t. y. ar šis ląstelinio imuniteto pokytis turėjo įtakos infekcijų išsivystymui bei jų eigai. Analizuojant bendrai, abiejose grupėse buvo po 4 ligonius, kurie tos pačios kaip operacija hospitalizacijos metu turėjo infekcinių komplikacijų. Panagrinėjus atidžiau, IM grupėje buvo trys pneumonijos atvejai ir vienas kateterinės infekcijos atvejis, tačiau šios infekcijos buvo lokalizuotos ir išgydytos papildomu antibiotikų kursu. Analizuodami infekcines komplikacijas K grupėje pastebėjome, jog net trijų lokalizuotų infekcijų (pneumonijos, šlapimo takų infekcijos ir mediastinito) atvejai komplikavosi sepsiu. Remdamiesi šiais pastebėjimais mes dar kartą iškėlėme prielaidą, jog nuo imunomitybos priklausomas CD4+ ląstelių skaičiaus padidėjimas lėmė geresnę T limfocitų migracinę potencialą ir geresnes galimybes reaguoti į tokias potencialias grėsmes kaip bakterinė infekcija, greičiau ją apriboti ir eliminuoti antigeną.

Siekdami tiksliau įvertinti ankstyvąsias pacientų baigtis po operacijos, mes plačiau panagrinėjome jų klinikinę eigą įtraukdami daugiau kriterijų – gydymo Reanimacijos ir intensyvios terapijos skyriuje (RITS) trukmę po operacijos, bendrą hospitalizacijos trukmę ir pakartotinį perkėlimą į RITS. Lyginant grupes pagal

šiuos kriterijus, reikšmingų skirtumų negauta. Analizuojant pakartotinį perkėlimą į RITS pastebėta tendencija, kad jis buvo dažnesnis K grupėje (1 vs 5), tačiau šis skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas ($p = 0,095$).

5.4.2. Vėlyvosios klinikinės baigtys

Vėlyvąsias klinikinės baigtis analizavome vienerių metų laikotarpiu. Vertinome mirštamumą bei rehospitalizacijų skaičių ir priežastis.

Kalbant apie rehospitalizacijų skaičių per metus laiko nuo operacijos datos, buvo gautas reikšmingas skirtumas tarp grupių, atitinkamai 3,7 % IM grupėje ir 25 % K grupėje, $p = 0,026$. Panagrinėjus rehospitalizacijų priežastis, IM grupėje per metus buvo viena rehospitalizacija dėl nugaros smegenų degeneracijos. K grupėje buvo 7 rehospitalizacijos į III lygio stacionarą: 2 – dėl širdies nepakankamumo paūmėjimo, 1 – dėl ūminio koronarinio sindromo, dėl kurio buvo stentuotos vainikinės kraujagyslės, 1 – dėl galvos smegenų infarkto, 1 – dėl reumatoidinio artrito paūmėjimo, 1 – dėl akies arterijos trombozės, 1 – dėl vis atsinaujinančio pleurito ir šiam pacientui buvo taikytas

chirurginis gydymas rehospitalizacijos metu. Kadangi rehospitalizacijų priežastys buvo skirtingos, galbūt į tai reikėtų pažvelgti iš platesnės perspektyvos. Matome, jog imunomityba glutamino ir antioksidantų pagrindu turėjo teigiamą įtaką mažesniai šių ligonių vėlyvajam sergamumui. Hipotetiškai manome, jog glutaminas, arba tiksliau jo trūkumo nebuvimas, leido greičiau ir efektyviau stabilizuotis metaboliniams procesams, vykstantiems organizme po operacijų ar didelių traumų.

Glutaminas padeda atkurti homeostazę daugiausia veikdamas šiuos aprašytus procesus:

- palaikydamas adenozino trifosfato lygį ląstelėje ir padidindamas jos jautrumą insulinui, padeda išsaugoti audinių metabolinę funkciją;
- sumažina iNOS ekspresiją (laisvųjų radikalų susidarymą) ir padidina antioksidantų kiekį ląstelėje po streso. Abu šie procesai sumažina oksidacinio streso padarinius;
- dalyvauja aktyvuojant ir reguliuojant imuninį atsaką;
- skatina nikotinamido adenino dinukleotido fosfatą (NADP) gamybą, tuo tiesiogiai prisidedamas prie ląstelės funkcionavimo, atsikūrimo ir augimo (344).

Matome, jog ši aminorūgštis yra naudojamas daugelyje bazinių homeostazės atkūrimo ir palaikymo procesų, todėl tai ypač svarbu po didelės apimties operacijų ar traumų, kai glutamino atsargos išsekvojamos, o poreikis yra padidėjęs (146). Aprašytoje studijoje buvo pastebėta, kad po širdies operacijos labai sumažėjo glutamino kiekis plazmoje, ir tai buvo susiję su blogėsnėmis pooperacinėmis baigtimis (35). Kiek mums žinoma, nėra nė vienos studijos, nagrinėjančios pooperacinės imunomitybos glutaminu įtaką pooperacinėms baigtims po širdies operacijų, ypač vėlyvosioms baigtims. Turint omenyje, jog šiais laikais, patobulėjus technologijoms ir metodikoms, problema kardiochirurgijoje yra ne ankstyvas mirštamumas, o sergamumas ir mirštamumas ilgesniu laiko tarpsniu, t. y. vienerių ar kelerių metų laikotarpiu.

Kalbant apie vienerių metų mirštamumą, jis tarp grupių nesiskyrė. IM grupėje mirė vienas ligonis, K grupėje – 3 ligoniai, $p = 0,317$. Mūsų tyrimo duomenimis, imunomityba glutamino ir antioksidantų pagrindu neturėjo įtakos vienerių metų mirštamumui po širdies operacijų.

Labai nedaug publikuotų studijų nagrinėjo ilgalaikes baigtis skiriant imunomitybą glutamino pagrindu. Tyrimų apie ilgalaikes baigtis po širdies operacijų ir imunomitybą iš viso nepavyko rasti. Yra išspausdinta keletas

tyrimų, kuriuose buvo analizuojama glutamino įtaka 30 dienų ir 6 mėnesių (346) bei 3 ir 6 mėnesių (347) laikotarpiu intensyviosios terapijos ligoniams, kuriems buvo skirta parenterinė glutamino terapija. Gauti tokie rezultatai: nors per 30 dienų laikotarpį reikšmingų skirtumų negauta, tačiau 3 bei 6 mėnesių išgyvenamumas ir sergamumas buvo reikšmingai mažesni glutamino grupėje. 2007–2012 m. buvo atlikta daugiacentrė dvigubai akla atsitiktinių imčių studija „REDOXS: REducing Deaths due to OXidative Stress“ (348), kurioje buvo tiriama ankstyvos parenterinės imunomitybos glutamino, antioksidantų bei glutamino ir antioksidantų pagrindu įtaka ankstyvajam bei vėlyvajam mirštamumui ir baigtims tų intensyviosios terapijos skyriaus ligonių, kuriems buvo dauginis organų nepakankamumas. Paskelbus duomenis, buvo aprašytas didesnis mirštamumas imunomitybos grupėse, ypač glutamino ir antioksidantų grupėje, palyginti su kontroline grupe (349). Atlikus *post-hoc* analizę (350), kurioje buvo tiriamas gydymo poveikis pogrupiuose, apibrėžtuose pagal pradines paciento charakteristikas bei pakoregavus pradinį kintamuosius, paaiškėjo, jog didžiausias mirštamumas buvo ligonių, kuriems dauginis organų nepakankamumas buvo kartu su inkstų funkcijos nepakankamumu. Paminėtina ir tai, jog šioje studijoje buvo naudotas labai didelis glutamino kiekis (paros dozė – 0,5 g/kg parenterinio bei 42,5 g enterinio), kas viršijo gairėse apibrėžtas bei ankstesniuose tyrimuose bandytas glutamino dozes. Be to, trečdaliui pacientų buvo inkstų funkcijos nepakankamumas, o tai yra aiški kontraindikacija labai ankstyvai parenterinei mitybai ir glutamino vartojimui. Galiausiai, pogrupių analizės, kurios rodo, kad tokia glutamino terapija gali būti žalinga tam tikromis aplinkybėmis, buvo ginčytinos: imčių dydžiai buvo per maži, o analizės buvo *post-hoc*. Tačiau mokslo pasauliui šios studijos autoriai pranešė svarbią žinią, jog glutaminas nėra „gyvybės eliksyras“, kad jis, kaip ir visos kitos farmakologinės medžiagos, turi turėti savo aiškias dozės ribas ir aiškias tikslines grupes. Atsižvelgiant į šiuos rezultatus buvo atlikta ir paskelbta keletas publikuotų atsitiktinių imčių tyrimų rezultatų metaanalizių. Vienoje jų (351) aptarti atsitiktinių imčių tyrimai, griežtai atmetus tas studijas, kurios taikė parenterinę imunomitybą glutaminu ligoniams, turintiems inkstų ar kepenų funkcijos nepakankamumą bei didelį metabolinių procesų nestabilumą, ir jų intraveninio glutamino paros dozė buvo ne didesnė nei 0,5 g/kg. Atlikus metaanalizę buvo pastebėta, jog intensyviosios terapijos ligoniams, kurie neturi ūminio inkstų ir (ar) kepenų funkcijos nepakankamumo, imunomityba glutamino ir antioksidantų pagrindu davė teigiamų rezultatų: glutamino grupėje buvo nustatytas mažesnis mirštamumas hospitalizacijos metu, mažesnė gydymosi RITS ir hospitalizacijos trukmė, taip pat mažesnė DPV

trukmė ir mažesnis infekcinių komplikacijų dažnis. Bollhalder ir kolegų metaanalizėje (352) buvo nagrinėta 40 atsitiktinių imčių tyrimų, kuriuose dalyvavo 3 107 intensyviosios terapijos pacientai ir (ar) pacientai, kuriems atliktos didelės apimties operacijos. Šie tyrėjai nustatė, kad parenterinė glutamino terapija labai sumažino infekcijų dažnį ir gydymo ligoninėje trukmę. Tais pačiais metais Tao su kolegomis (353) pranešė savo „Cochrane“ duomenų bazės apžvalgą, kuri buvo paskelbta iki 2013 m. gegužės mėn. Jie nustatė, kad glutamino papildai RITS ligoniams ir (ar) ligoniams po operacijos sumažino infekcijų dažnį, DPV dienų skaičių ir hospitalizacijos trukmę, tačiau neturėjo įtakos trumpalaikiam mirštamumui.

Taigi 2019 metų ESPEN gairės rekomenduoja intensyviosios terapijos ligoniams taikyti enterinę glutamino terapiją po nudegimų ir didelių traumų (įskaitant operacinę traumą). Taip pat gairėse nurodyta, jog parenterinis glutamino skyrimas griežtai nerekomenduojamas ligoniams, turintiems ūminį inkstų funkcijos nepakankamumą ir (ar) kepenų funkcijos nepakankamumą (354<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.08.037>). O 2021 metų ESPEN gairėse parenterinis glutamino skyrimas rekomenduojamas ligoniams, kurie po operacijos negali adekvačiai maitintis patys. Kalbant apie enterinį glutamino skyrimą, šiose gairėse iškeliamas prielaida, kad jis gali būti naudingas ligoniams po didelės apimties operacijų, tačiau dėl įrodymų trūkumo enterinio glutamino negalima rekomenduoti visiems ligoniams (355<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.03.031>). Būtina atsižvelgti į tai, jog šios gairės daugiau susijusios su ligoniais, kurių po operacijos nereikia gydyti RITS.

TYRIMO RIBOTUMAI

Didžiausias mūsų atlikto tyrimo trūkumas buvo nedidelė tiriamųjų imtis, todėl imunologiniai duomenys yra labai išsibarstę. Taip pat daug kur vertinant rezultatus matomos tendencijos, kurias būtų galima patikrinti didesnės imties tyrimu. Be abejonės, atsižvelgiant į patirtį, įgytą atliekant šį tyrimą, tikėtina, jog esant didesnei grupei iškritusių iš tyrimo pacientų skaičius taip pat padidėtų, daugiausia dėl mitybos taisyklių nesilaikymo. Pabrėžtina, kad tyrimo rezultatai turėtų būti vertinami kaip aiškinamieji ir tiriamieji, nušviečiantys kai kuriuos galimus imunologinius mechanizmus ir korekcijos būdus ligoniams po širdies operacijų bei jų sąsajas su klinikinėmis baigtimis.

IŠVADOS

1. Pooperacinė imunomityba glutamino ir antioksidantų pagrindu lėmė statistiškai reikšmingą CD3+ ir CD4+ T limfocitų kiekio padidėjimą imunomitybos grupės tiriamiesiems, tačiau šis skaičiaus padidėjimas nebuvo susijęs su didesne T limfocitų aktyvacija. Padidėjęs T limfocitų skaičius, tikėtina, pagerino T limfocitų migracines savybes ir galimybes greičiau reaguoti į galimą pavojų.
2. Pooperacinė imunomityba glutamino ir antioksidantų pagrindu neturėjo įtakos sisteminio uždegiminio atsako eigai po širdies operacijos.
3. Pooperacinės imunomitybos glutamino ir antioksidantų pagrindu įtaka išeitims:
 - 3.1. neturėjo įtakos STS paskelbtoms dažniausioms baigtims po širdies operacijų.
 - 3.2. neturėjo įtakos gydymosi RITS, hospitalizacijos po operacijos trukmei, pakartotinių perkėlimų į RITS arba infekcinių komplikacijų dažniui hospitalizacijos metu.
 - 3.3. sumažino inkstų funkcijos pažeidimą ar riziką jam įvykti hospitalizacijos metu. Mes apskaičiavome, jog imunomityba glutamino ir antioksidantų mišiniu 4,3 karto sumažina inkstų pažeidimo ar rizikos tikimybę po širdies operacijų.
 - 3.4. neturėjo įtakos vienerių metų mirštamumui po širdies operacijų, tačiau statistiškai patikimai sumažino vėlyvąjį sergamumą po šių operacijų.

PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

Remiantis tyrimo rezultatais galima teigti, jog ankstyva peroralinė pooperacinė imunomityba glutamino ir antioksidantų mišiniu yra naudinga mažos operacinės rizikos kardiochirurginiams ligoniams, turintiems

sumažėjusį ląstelių gyvybingumą, t. y. trapiems ligoniams. Svarbu, kad mišiniai būtų vartojami rekomenduojamomis dozėmis ir neskiriami eant kontraindikacijoms (ūminis inkstų ir kepenų funkcijos nepakankamumas). Pastebėta, jog šie ligoniai, nepaisant tolygiai mažėjančių sisteminio uždegiminio atsako žymenų bei užtikrintai nesant nei klinikinės, nei subklinikinės infekcijos, turėjo reikšmingai daugiau T limfocitų pagalbininkų cirkuliuojančiame kraujyje. Mūsų manymu, tai pagerino šių limfocitų migracines savybes ir galimybę greičiau reaguoti į galimas grėsmes. Iš literatūros žinoma, kad glutaminas dalyvauja atkuriant kūno homeostazę ir stabilizuojant metabolinius procesus, taigi manome, kad jis ne tik sustiprino ląstelinio imuniteto galimybes, bet ir lėmė mažesnę inkstų pažeidimo išsivystymo riziką bei statistiškai mažesnę sergamumą vienerių metų laikotarpiu. Jokių komplikacijų ar nepageidaujamų reiškinių nepastebėta.

Atkreiptinas dėmesys, jog ši pooperacinė imunomitybos schema visiškai nesutrikdė įprastos planinio kardiochirurginio darbo rutinos, nes ligoniai paprastai ruošiami operacijai ambulatoriškai, o hospitalizuojami dieną prieš arba operacijos dieną ir gydomi liginėje daugiau nei 5 paras po operacijos. Todėl neabejotinai galima teigti, jog šis imunomitybos modelis būtų lengvai įgyvendinamas gydančio gydytojo ir tam nereikėtų papildomų žmoniškųjų išteklių.

LITERATŪRA

1. World Health Organization. *World health statistics 2019: Monitoring health for the SDGs, sustainable development goals*. World Health Organization: Genève, Switzerland, 2019.
2. Higienos instituto Sveikatos informacijos centras. *Mirties priežastys 2019*. Vilnius 2020. https://www.hi.lt/uploads/pdf/leidiniai/Statistikos/Mirties_priezastys/Mirties_priezastys_2019.pdf.
3. David Yaffee, Mathew Williams. *Cardiac Surgery and the Future. Expert Analysis*. 9 September 2015. American College of Cardiology. <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/articles/2015/09/09/08/44/cardiac-surgery-and-the-future>.

4. Serruys PW, SYNTAX Investigators S. Percutaneous coronary intervention versus coronary-artery bypass grafting for severe coronary artery disease. *N Engl J Med* 2009; **360**: 961–972.
5. Boudriot E, Thiele H, Walther T, Liebetrau C, Boeckstegers P, Pohl T *et al.* Randomized comparison of percutaneous coronary intervention with sirolimus-eluting stents versus coronary artery bypass grafting in unprotected left main stem stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2011; **57**: 538–545.
6. Park SJ, Kim YH, Park DW, Yun SC, Ahn JM, Song HG *et al.* Randomized trial of stents versus bypass surgery for left main coronary artery disease. *N Engl J Med* 2011; **364**: 1718–1727.
7. Park SJ, Ahn JM, Kim YH, Park DW, Yun SC, Lee JY *et al.* Trial of everolimus-eluting stents or bypass surgery for coronary disease. *N Engl J Med* 2015; **372**: 1204–1212.
8. Mäkikallio T, Holm NR, Lindsay M, Spence MS, Erglis A, Menown IBA *et al.* Percutaneous coronary angioplasty versus coronary artery bypass grafting in treatment of unprotected left main stenosis (NOBLE): a prospective, randomised, open-label, non-inferiority trial. *Lancet* 2016; **388**: 2743–275.
9. Stone GW, Sabik JF, Serruys PW, Simonton CA, Généreux P, Puskas J *et al.* Everolimus-eluting stents or bypass surgery for left main coronary artery disease. *N Engl J Med* 2016; **375**: 2223–2235.
10. Neumann F-J, Sousa-Uva M, Ahlsson A, Alfonso F, Banning AP, Benedetto U *et al.* 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J* 2019; **40**: 87–165.
11. Baumgartner H, Falk V, Bax JJ, De Bonis M, Hamm C, Holm PJ *et al.* 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *Eur Heart J* 2017; **38**: 2739–2791.
12. Felix G. The Society of Thoracic Surgeons National Database 2019 Annual Report. *Ann Thorac Surg* 2019; **108**: 1625–1632.
13. NICOR. National adult cardiac surgery audit. 2019 summary report. 2019.
14. Lietuvos krūtinės ir širdies chirurgų draugijos kasmetinis suvažiavimas. 2019 11 15. Palanga. Metinė ataskaita už 2019 metus. 2019.
15. Nashef SAM, Roques F, Sharples LD, Nilsson J, Smith C, Goldstone AR *et al.* EuroSCORE II. *Eur J Cardiothorac Surg* 2012; **41**: 734–44; discussion 744-5.

16. Sanders J, Cooper J, Mythen MG, Montgomery HE. Predictors of total morbidity burden on days 3, 5 and 8 after cardiac surgery. *Perioper Med (Lond)* 2017; **6**: 2.
17. Tuman KJ, McCarthy RJ, March RJ, Najafi H, Ivankovich AD. Morbidity and duration of ICU stay after cardiac surgery. A model for preoperative risk assessment. *Chest* 1992; **102**: 36–44.
18. Patra C, Chamaiah Gatti P, Panigrahi A. Morbidity After cardiac surgery under cardiopulmonary bypass and associated factors: A retrospective observational study. *Indian Heart J* 2019; **71**: 350–355.
19. Hansen LS, Hjortdal VE, Andreassen JJ, Mortensen PE, Jakobsen C-J. 30-day mortality after coronary artery bypass grafting and valve surgery has greatly improved over the last decade, but the 1-year mortality remains constant. *Ann Card Anaesth* 2015; **18**: 138–142.
20. Squicciarro E, Labriola C, Malvindi PG, Margari V, Guida P, Visicchio G *et al.* Prevalence and clinical impact of systemic inflammatory reaction after cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2019; **33**: 1682–1690.
21. Paparella D, Yau TM, Young E. Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002; **21**: 232–244.
22. Laffey JG, Boylan JF, Cheng DCH. The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology* 2002; **97**: 215–252.
23. Kraft F, Schmidt C, Van Aken H. Inflammatory response and extracorporeal circulation. Best practice & research. *Clinical anaesthesiology* 2015; **29**: 113–123.
24. McGuinness J, Bouchier-Hayes D, Redmond JM. Understanding the inflammatory response to cardiac surgery. *Surgeon* 2008; **6**: 162–171.
25. Jacobs JP, Shahian DM, D’Agostino RS, Jacobs ML, Kozower BD, Badhwar V *et al.* The Society of Thoracic Surgeons National Database 2017 annual report. *Ann Thorac Surg* 2017; **104**: 1774–1781.
26. Westphal AB, Danielzik S, Dörhöfer RP. Phase angle from bioelectrical impedance analysis: population reference values by age, sex and body mass index. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 2006; **30**: 309–316.
27. Suchner U, Heyland DK, Peter K. Immune-modulatory actions of arginine in the critically ill. *Br J Nutr* 2002; **87**: S121–S132.
28. Andrews FJ, Griffiths RD. Glutamine: essential for immune nutrition in the critically ill. *Br J Nutr* 2002; **87**: S3–S8.

29. Roth E. Nonnutritive effects of glutamine. *J Nutr* 2008; **138**: 2025S-2031S.
30. Grimble GK, Westwood OM. Nucleotides as immunomodulators in clinical nutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001; **4**: 57–64.
31. Suchner U, Kuhn KS, Fürst P. The scientific basis of immunonutrition. *Proc Nutr Soc* 2000; **59**: 553–563.
32. Calder PC. Immunonutrition. *BMJ* 2003; **327**: 117–118.
33. Cetinbas F, Yelken B, Gulbas Z. Role of glutamine administration on cellular immunity after total parenteral nutrition enriched with glutamine in patients with systemic inflammatory response syndrome. *J Crit Care* 2010; **25**: 661.e1–6.
34. Engel JM, Mühling J, Kwapisz M, Heidt M. Glutamine administration in patients undergoing cardiac surgery and the influence on blood glutathione levels. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009; **53**: 1317–1323.
35. Buter H, Koopmans M, Kemperman R, Jekel L, Boerma C. Plasma glutamine levels before cardiac surgery are related to post-surgery infections; an observational study. *J Cardiothorac Surg* 2016; **11**: 155.
36. Ramsay G, Cantrell D. Environmental and metabolic sensors that control T cell biology. *Front Immunol* 2015; **6**: 99.
37. Carr EL, Kelman A, Wu GS, Gopaul R, Senkevitch E, Aghvanyan A *et al*. Glutamine uptake and metabolism are coordinately regulated by ERK/MAPK during T lymphocyte activation. *J Immunol* 2010; **185**: 1037–1044.
38. Lorenz KJ, Schallert R, Daniel V. Immunonutrition – the influence of early postoperative glutamine supplementation in enteral/parenteral nutrition on immune response, wound healing and length of hospital stay in multiple trauma patients and patients after extensive surgery. 2015. doi:10.3205/iprs000074.
39. Blaauw R, Nel DG, Schleicher GK. Plasma glutamine levels in relation to intensive care unit patient outcome. *Nutrients* 2020; **12**: 402.
40. Alazawi W, Pirmadjid N, Lahiri R, Bhattacharya S. Inflammatory and immune responses to surgery and their clinical impact. *Ann Surg* 2016; **264**: 73–80.
41. Marik PE, Flemmer M. The immune response to surgery and trauma: Implications for treatment: Implications for treatment. *J Trauma Acute Care Surg* 2012; **73**: 801–808.
42. Cabrera CP, Manson J, Shepherd JM. Signatures of inflammation and impending multiple organ dysfunction in the hyperacute phase of trauma: a prospective cohort study. *PLoS Med* 2017; **14**.

43. Allen CJ, Griswold AJ, Schulman CI, Sleeman D, Levi JU, Livingstone AS *et al.* Global gene expression change induced by major thoracoabdominal surgery. *Ann Surg* 2017; **266**: 981–987.
44. Xiao W, Mindrinos MN, Seok J, Cuschieri J, Cuenca AG, Gao H *et al.* A genomic storm in critically injured humans. *J Exp Med* 2011; **208**: 2581–2590.
45. Shankar Hari M, Summers C. Major surgery and the immune system: From pathophysiology to treatment. *Curr Opin Crit Care* 2018; **24**: 588–593.
46. Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT. PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev* 2012; **249**: 158–175.
47. Mogensen TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clin Microbiol Rev* 2009; **22**: 240–73, Table of Contents.
48. Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol* 2007; **81**: 1–5.
49. Schaefer L. Complexity of danger: the diverse nature of damage-associated molecular patterns. *J Biol Chem* 2014; **289**: 35237–35245.
50. Ren B, Zou G, Huang Y, Xu G, Xu F, He J *et al.* Serum levels of HSP70 and other DAMP proteins can aid in patient diagnosis after traumatic injury. *Cell Stress Chaperones* 2016; **21**: 677–686.
51. Ritossa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila. *Experientia* 1962; **18**: 571–573.
52. Becker J, Craig EA. Heat-shock proteins as molecular chaperones. In: *EJB Reviews 1994*. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1994, pp 11–23.
53. Jolly C, Morimoto RI. Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. *J Natl Cancer Inst* 2000; **92**: 1564–1572.
54. Calderwood SK, Gong J, Murshid A. Extracellular HSPs: The complicated roles of extracellular HSPs in immunity. *Front Immunol* 2016; **7**: 159.
55. Liu P, Bao H-Y, Jin C-C, Zhou J-C, Hua F, Li K *et al.* Targeting extracellular heat shock protein 70 ameliorates doxorubicin-induced heart failure through resolution of toll-like receptor 2-mediated myocardial inflammation. *J Am Heart Assoc* 2019; **8**: e012338.

56. an Eden W, Jansen MAA, Ludwig I, van Kooten P, van der Zee R, Broere F. The enigma of heat shock proteins in immune tolerance. *Front Immunol* 2017; **8**: 1599.
57. De Haan JJ, Smeets MB, Pasterkamp G, Arslan F. Danger signals in the initiation of the inflammatory response after myocardial infarction. *Mediators Inflamm* 2013; **2013**.
58. Zininga T, Ramatsui L, Shonhai A. Heat shock proteins as immunomodulators. *Molecules* 2018; **23**: 2846.
59. Carta S, Castellani P, Delfino L, Tassi S, Venè R, Rubartelli A. DAMPs and inflammatory processes: the role of redox in the different outcomes. *J Leukoc Biol* 2009; **86**: 549–555.
60. Poyton RO, Ball KA, Castello PR. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends Endocrinol Metab* 2009; **20**: 332–340.
61. Susnow N, Zeng L, Margineantu D, Hockenbery DM. Bcl-2 family proteins as regulators of oxidative stress. *Semin Cancer Biol* 2009; **19**: 42–49.
62. Pohl SÖ-G, Agostino M, Dharmarajan A, Pervaiz S. Cross talk between cellular redox state and the antiapoptotic protein bcl-2. *Antioxid Redox Signal* 2018; **29**: 1215–1236.
63. Rhodes CJ. Can Free Radicals Be Good for You?” *Science Progress*. *Science Progress* 1933; **94**: 451–462.
64. Virág L, Jaén RI, Regdon Z, Boscá L, Prieto P. Self-defense of macrophages against oxidative injury: Fighting for their own survival. *Redox Biol* 2019; **26**: 101261.
65. Naoi M, Maruyama W, Yi H, Inaba K, Akao Y, Shamoto-Nagai M. Mitochondria in neurodegenerative disorders: regulation of the redox state and death signaling leading to neuronal death and survival. *J Neural Transm (Vienna)* 2009; **116**: 1371–1381.
66. Biswas S, Immunobiology and Regenerative Medicine Research laboratory, Department of Zoology, University of Calcutta, West Bengal, India, Das R, Ray Banerjee E. Role of free radicals in human inflammatory diseases. *AIMS Biophys* 2017; **4**: 596–614.
67. Türker FS, Doğan A, Ozan G, Kıbar K, Erişir M. Change in free radical and antioxidant enzyme levels in the patients undergoing open heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Oxid Med Cell Longev* 2016; **2016**: 1783728.
68. Li R, Jia Z, Trush MA. Defining ROS in biology and medicine. *React Oxyg Species (Apex)* 2016; **1**: 9–21.

69. Steck N, Grassl GA. Free radicals and pathogens – role for reactive intermediates in innate immunity. In: *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2014, pp 393–406.
70. Kobayashi S, Inoue N, Ohashi Y, Terashima M, Matsui K, Mori T *et al*. Interaction of oxidative stress and inflammatory response in coronary plaque instability: Important role of C-reactive protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; **23**: 1398–1404.
71. Closa D, Folch-Puy E. Oxygen free radicals and the systemic inflammatory response. *IUBMB Life* 2004; **56**: 185–191.
72. Shao Y, Nanayakkara G, Cheng J, Cueto R, Yang WY, Park J-Y *et al*. Lysophospholipids and their receptors serve as conditional DAMPs and DAMP receptors in tissue oxidative and inflammatory injury. *Antioxid Redox Signal* 2018; **28**: 973–986.
73. Dąbrowska AM, Słotwiński R. The immune response to surgery and infection. *Cent Eur J Immunol* 2014; **39**: 532–537.
74. Andersson U, Erlandsson-Harris H, Yang H, Tracey KJ. HMGB1 as a DNA-binding cytokine. *J Leukoc Biol* 2002; **72**: 1084–1091.
75. Cohen MJ, Brohi K, Calfee CS, Rahn P, Chesebro BB, Christiaans SC *et al*. Early release of high mobility group box nuclear protein 1 after severe trauma in humans: role of injury severity and tissue hypoperfusion. *Crit Care* 2009; **13**: R174.
76. Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002; **418**: 191–195.
77. Bell CW, Jiang W, Reich CF 3rd, Pisetsky DS. The extracellular release of HMGB1 during apoptotic cell death. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; **291**: C1318-25.
78. Schierbeck H, Wähämaa H, Andersson U, Harris HE. Immunomodulatory drugs regulate HMGB1 release from activated human monocytes. *Mol Med* 2010; **16**: 343–351.
79. Yang H, Antoine DJ, Andersson U, Tracey KJ. The many faces of HMGB1: molecular structure-functional activity in inflammation, apoptosis, and chemotaxis. *J Leukoc Biol* 2013; **93**: 865–873.
80. Lahiri R, Derwa Y, Bashir Z, Giles E, Torrance HDT, Owen HC *et al*. Systemic inflammatory response syndrome after major abdominal surgery predicted by early upregulation of TLR4 and TLR5. *Ann Surg* 2016; **263**: 1028–1037.

81. Margraf A, Ludwig N, Zarbock A, Rossaint J. Systemic inflammatory response syndrome after surgery: Mechanisms and protection. *Anesth Analg* 2020; **131**: 1693–1707.
82. DiGiandomenico A, Veach RA, Zienkiewicz J, Moore DJ, Wylezinski LS, Hutchens MA *et al.* The “genomic storm” induced by bacterial endotoxin is calmed by a nuclear transport modifier that attenuates localized and systemic inflammation. *PLoS One* 2014; **9**: e110183.
83. Huber-Lang M, Lambris JD, Ward PA. Innate immune responses to trauma. *Nat Immunol* 2018; **19**: 327–341.
84. Vestweber D. How leukocytes cross the vascular endothelium. *Nat Rev Immunol* 2015; **15**: 692–704.
85. Jorch SK, Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med* 2017; **23**: 279–287.
86. Ekdahl KN, Teramura Y, Hamad OA, Asif S, Duehrkop C, Fromell K *et al.* Dangerous liaisons: complement, coagulation, and kallikrein/kinin cross-talk act as a linchpin in the events leading to thromboinflammation. *Immunol Rev* 2016; **274**: 245–269.
87. Hamada A, Torre C, Drancourt M, Ghigo E. Trained immunity carried by non-immune cells. *Front Microbiol* 2018; **9**: 3225.
88. Yu H-P, Chaudry IH, Choudhry MA, Hsing C-H, Liu F-C, Xia Z. Inflammatory response to traumatic injury: Clinical and animal researches in inflammation. *Mediators Inflamm* 2015; **2015**: 729637.
89. Ni Choileain N, Redmond HP. Cell response to surgery. *Arch Surg* 2006; **141**: 1132–1140.
90. Hu L, Shi Q, Shi M, Liu R, Wang C. Diagnostic value of PCT and CRP for detecting serious bacterial infections in patients with fever of unknown origin: A systematic review and meta-analysis: A systematic review and meta-analysis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2017; **25**: e61–e69.
91. Jeon J-S, Rheem I, Kim JK. C-reactive protein and respiratory viral infection. *Korean J Clin Lab Sci* 2017; **49**: 15–21.
92. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front Immunol* 2018; **9**. doi:10.3389/fimmu.2018.00754.
93. Vijayan AL, Vanimaya, Ravindran S, Saikant R, Lakshmi S, Kartik R *et al.* Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. *J Intensive Care* 2017; **5**: 51.
94. Jin M, Khan AI. Procalcitonin: Uses in the clinical laboratory for the diagnosis of sepsis. *Lab Med* 2010; **41**: 173–177.

95. Müller B. Ubiquitous expression of the calcitonin-1 gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86**: 396–404.
96. Zhang T, Wang Y, Yang Q, Dong Y. Procalcitonin-guided antibiotic therapy in critically ill adults: a meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2017; **17**. doi:10.1186/s12879-017-2622-3.
97. Kumar S, Tripathy S, Jyoti A, Singh SG. Recent advances in biosensors for diagnosis and detection of sepsis: A comprehensive review. *Biosens Bioelectron* 2019; **124–125**: 205–215.
98. Karzai W, Oberhoffer M, Meier-Hellmann A, Reinhart K. Procalcitonin--a new indicator of the systemic response to severe infections. *Infection* 1997; **25**: 329–334.
99. de Jong E, van Oers JA, Beishuizen A, Vos P, Vermeijden WJ, Haas LE *et al*. Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: a randomised, controlled, open-label trial. *Lancet Infect Dis* 2016; **16**: 819–827.
100. Ko YH, Ji YS, Park S-Y, Kim SJ, Song PH. Procalcitonin determined at emergency department as an early indicator of progression to septic shock in patient with sepsis associated with ureteral calculi. *Int Braz J Urol* 2016; **42**: 270–276.
101. Ciriello V, Gudipati S, Stavrou PZ, Kanakaris NK, Bellamy MC, Giannoudis PV. Biomarkers predicting sepsis in polytrauma patients: Current evidence. *Injury* 2013; **44**: 1680–1692.
102. Sartelli M, Ansaloni L, Bartoletti M, Catena F, Cardi M, Cortese F *et al*. The role of procalcitonin in reducing antibiotics across the surgical pathway. *World J Emerg Surg* 2021; **16**: 15.
103. Khalil RH, Al-Humadi N. Types of acute phase reactants and their importance in vaccination (Review). *Biomedical Reports* 2020; **12**: 143–152.
104. Kaneko N, Kurata M, Yamamoto T, Morikawa S, Masumoto J. The role of interleukin-1 in general pathology. *Inflamm Regen* 2019; **39**: 12.
105. Wang J, Hossain M, Thanabalasuriar A, Gunzer M, Meininger C, Kubes P. Visualizing the function and fate of neutrophils in sterile injury and repair. *Science* 2017; **358**: 111–116.
106. Németh T, Mócsai A. Feedback amplification of neutrophil function. *Trends Immunol* 2016; **37**: 412–424.
107. Hina C, Juhua Z, Yin Z, Mir MA, Franklin M, Prakash SN *et al*. Role of Cytokines as a Double-edged Sword in Sepsis. *In Vivo* 2013; **27**: 669–684.

108. Trousdale MD, Stevenson D, Kaslow HR, Schechter JE, Warren DW, Azzarolo AM *et al.* Effect of anti-inflammatory cytokines on the activation of lymphocytes by lacrimal gland acinar cells in an autologous mixed cell reaction. *Cornea* 2000; **19**: S133.
109. Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH *et al.* Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA* 2011; **306**: 2594.
110. Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000; **127**: 117–126.
111. Cavaillon JM. Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2001; **47**: 695–702.
112. Xu P-B, Lou J-S, Ren Y, Miao C-H, Deng X-M. Gene expression profiling reveals the defining features of monocytes from septic patients with compensatory anti-inflammatory response syndrome. *J Infect* 2012; **65**: 380–391.
113. Yadavalli GK, Auletta JJ, Gould MP, Salata RA, Lee JH, Heinzl FP. Deactivation of the innate cellular immune response following endotoxic and surgical injury. *Exp Mol Pathol* 2001; **71**: 209–221.
114. Dietz A, Heimlich F, Daniel V, Polarz H, Weidauer H, Maier H. Immunomodulating effects of surgical intervention in tumors of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; **123**: 132–139.
115. Lord JM, Midwinter MJ, Chen Y-F, Belli A, Brohi K, Kovacs EJ *et al.* The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. *Lancet* 2014; **384**: 1455–1465.
116. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997; **112**: 235–243.
117. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989; **170**: 2081–2095.
118. Shibata Y. Immunoregulatory roles of IL-10 in innate immunity: IL-10 inhibits macrophage production of IFN- γ -inducing factors but enhances NK cell production of IFN- γ . *J Immunol* 1998; **161**: 4283–4288.
119. Beau D. Interleukin-4 and interleukin-10 increase endotoxin-stimulated human umbilical vein endothelial cell interleukin-8 release. *J Interf Cyto Res* 1995; **15**: 441–445.
120. Chen Z, Bozec A, Ramming A, Schett G. Anti-inflammatory and immune-regulatory cytokines in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2019; **15**: 9–17.

121. Bonomo AC, Pinto-Mariz F, Riederer I, Benjamim CF, Butler-Browne G, Mouly V *et al.* Crosstalk between innate and T cell adaptive immunity with(in) the muscle. *Front Physiol* 2020; **11**: 573347.
122. Brutkiewicz RR. Cell signaling pathways that regulate antigen presentation. *J Immunol* 2016; **197**: 2971–2979.
123. Ayala García MA, González Yebra B, López Flores AL, Guaní Guerra E. The major histocompatibility complex in transplantation. *J Transplant* 2012; **2012**: 842141.
124. Guild WR, Harrison JH, Merrill JP, Murray J. Successful homotransplantation of the kidney in an identical twin. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 1955; **67**: 167–173.
125. Michon L, Hamburger J, Oeconomos N, Delinotte P, Richet G, Vaysse J *et al.* An attempted kidney transplantation in man: medical and biological aspects. *Presse Med* 1953; **61**: 1419–1423.
126. Kumanovics A. Good copy, bad copy: choosing animal models for HLA-linked diseases. *Curr Opin Genet Dev* 2004; **14**: 258–263.
127. Snell GD. Studies in histocompatibility. *Scand J Immunol* 1992; **36**: 514–525.
128. Zinkernagel RM, Doherty PC. The discovery of MHC restriction. *Immunol Today* 1997; **18**: 14–17.
129. Wieczorek M, Abualrous ET, Sticht J, Álvaro-Benito M, Stolzenberg S, Noé F *et al.* Major histocompatibility complex (MHC) class I and MHC class II proteins: Conformational plasticity in antigen presentation. *Front Immunol* 2017; **8**: 292.
130. Luckheeram RV, Zhou R, Verma AD, Xia B. CD4+T cells: differentiation and functions. *Clin Dev Immunol* 2012; **2012**: 925135.
131. Shen Z, Liu S, Li X, Wan Z, Mao Y, Chen C *et al.* Conformational change within the extracellular domain of B cell receptor in B cell activation upon antigen binding. *Elife* 2019; **8**. doi:10.7554/eLife.42271.
132. Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat Immunol* 2015; **16**: 343–353.
133. Hwang J-R, Byeon Y, Kim D, Park S-G. Recent insights of T cell receptor-mediated signaling pathways for T cell activation and development. *Exp Mol Med* 2020; **52**: 750–761.
134. Hogquist KA, Xing Y, Hsu F-C, Shapiro VS. T cell adolescence: Maturation events beyond positive selection. *J Immunol* 2015; **195**: 1351–1357.

135. McClory S, Hughes T, Freud AG, Briercheck EL, Martin C, Trimboli AJ *et al.* Evidence for a stepwise program of extrathymic T cell development within the human tonsil. *J Clin Invest* 2012; **122**: 1403–1415.
136. Torfadottir H, Freysdottir J, Skaftadottir I, Haraldsson A, Sigfusson G, Ogmundsdottir HM. Evidence for extrathymic T cell maturation after thymectomy in infancy. *Clin Exp Immunol* 2006; **145**: 407–412.
137. Kishimoto H, Sprent J. Negative selection in the thymus includes semimature T cells. *J Exp Med* 1997; **185**: 263–271.
138. Ashkar S, Weber GF, Panoutsakopoulou V, Sanchirico ME, Jansson M, Zawaideh S *et al.* Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cell-mediated) immunity. *Science* 2000; **287**: 860–864.
139. Tao X, Constant S, Jorritsma P, Bottomly K. Strength of TCR signal determines the costimulatory requirements for Th1 and Th2 CD4+ T cell differentiation. *J Immunol* 1997; **159**: 5956–5963.
140. Harris NL, Ronchese F. The role of B7 costimulation in T-cell immunity. *Immunol Cell Biol* 1999; **77**: 304–311.
141. Jenkins MK, Khoruts A, Ingulli E, Mueller DL, McSorley SJ, Reinhardt RL *et al.* In vivo activation of antigen-specific CD4 T cells. *Annu Rev Immunol* 2001; **19**: 23–45.
142. Almeida L, Lochner M, Berod L, Sparwasser T. Metabolic pathways in T cell activation and lineage differentiation. *Semin Immunol* 2016; **28**: 514–524.
143. Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol* 2005; **23**: 515–548.
144. Croft M. The role of TNF superfamily members in T-cell function and diseases. *Nat Rev Immunol* 2009; **9**: 271–285.
145. Bretscher PA. A two-step, two-signal model for the primary activation of precursor helper T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; **96**: 185–190.
146. Cibrián D, Sánchez-Madrid F. CD69: from activation marker to metabolic gatekeeper. *Eur J Immunol* 2017; **47**: 946–953.
147. de la Fuente H, Cruz-Adalia A, Martínez Del Hoyo G, Cibrián-Vera D, Bonay P, Pérez-Hernández D *et al.* The leukocyte activation receptor CD69 controls T cell differentiation through its interaction with galectin-1. *Mol Cell Biol* 2014; **34**: 2479–2487.
148. Gonzalez-Amaro R, Cortes JR, Sanchez-Madrid F, Martin P. IsCD69 an effective brake to control inflammatory diseases? *Trends MolMed* 2013; **19**: 625–632.

149. Pollizzi KN, Powell JD. Integrating canonical and metabolic signalling programmes in the regulation of T cell responses. *Nat Rev Immunol* 2014; **14**: 435–446.
150. Martín P, Gómez M, Lamana A, Cruz-Adalia A, Ramírez-Huesca M, Ursa MA *et al.* CD69 association with Jak3/Stat5 proteins regulates Th17 cell differentiation. *Mol Cell Biol* 2010; **30**: 4877–4889.
151. Bevington SL, Cauchy P, Withers DR, Lane PJJ, Cockerill PN. T cell receptor and cytokine signaling can function at different stages to establish and maintain transcriptional memory and enable T helper cell differentiation. *Front Immunol* 2017; **8**: 204.
152. Trinchieri G, Pflanz S, Kastelein RA. The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new players in the regulation of T cell responses. *Immunity* 2003; **19**: 641–644.
153. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2003; **21**: 685–711.
154. Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2004; **5**: 987–995.
155. Trinchieri G, Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nat Rev Immunol* 2007; **7**: 179–190.
156. Lugo-Villarino G. T-bet is required for optimal production of IFN- γ and antigen-specific T cell activation by dendritic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003; **100**: 7749–7754.
157. Lazarevic V, Chen X, Shim JH. T-bet represses TH 17 differentiation by preventing Runx1-mediated activation of the gene encoding ROR γ t. *Nature Immunology* 2011; **12**: 96–104.
158. Oestreich KJ, Huang AC, Weinmann AS. The lineage-defining factors T-bet and Bcl-6 collaborate to regulate Th1 gene expression patterns. *J Exp Med* 2011; **208**: 1001–1013.
159. Del Prete G. Human Th1 and Th2 lymphocytes: their role in the pathophysiology of atopy. *Allergy* 1992; **47**: 450–455.
160. Sokol CL, Chu N-Q, Yu S, Nish SA, Laufer TM, Medzhitov R. Basophils function as antigen-presenting cells for an allergen-induced T helper type 2 response. *Nat Immunol* 2009; **10**: 713–720.
161. Steinke JW, Borish L. Th2 cytokines and asthma. Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists. *Respir Res* 2001; **2**: 66–70.
162. Doucet C, Brouty-Boyé D, Pottin-Clemenceau C, Jasmin C, Canonica GW, Azzarone B. IL-4 and IL-13 specifically increase adhesion

molecule and inflammatory cytokine expression in human lung fibroblasts. *Int Immunol* 1998; **10**: 1421–1433.

163. Martinez-Moczygemba M, Huston DP. Biology of common β receptor-signaling cytokines: IL-3, IL-5, and GM-CSF. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003; **112**: 653–665.

164. Little FF, Cruikshank WW, Center DM. IL-9 stimulates release of chemotactic factors from human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; **25**: 347–352.

165. Wynn TA. IL-13 effector functions. *Annu Rev Immunol* 2003; **21**: 425–456.

166. Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: the master regulator of immunity to infection. *J Immunol* 2008; **180**: 5771–5777.

167. Ballantyne SJ, Barlow JL, Jolin HE, Nath P, Williams AS, Chung KF *et al*. Blocking IL-25 prevents airway hyperresponsiveness in allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007; **120**: 1324–1331.

168. Veldhoen M. TGF β in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006; **24**: 179–189.

169. Chen W. Conversion of peripheral CD4⁺CD25⁻ naive T cells to CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells by TGF- β induction of transcription factor foxp3. *Journal of Experimental Medicine* 2003; **198**: 1875–1886.

170. Zhou L. TGF- β -induced Foxp3 inhibits TH17 cell differentiation by antagonizing ROR γ t function. *Nature* 2008; **453**: 236–240.

171. Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, Maggi L, Liotta F, Mazzinghi B *et al*. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med* 2007; **204**: 1849–1861.

172. Gaffen SL. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nat Rev Immunol* 2009; **9**: 556–567.

173. Ivanov II. The Orphan Nuclear Receptor ROR γ t Directs the Differentiation Program of Proinflammatory IL-17⁺ T Helper Cells. *Cell* 2006; **126**: 1121–1133.

174. Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH. Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; **14**: 155–174.

175. Leonard WJ, Spolski R. Interleukin-21: a modulator of lymphoid proliferation, apoptosis and differentiation. *Nat Rev Immunol* 2005; **5**: 688–698.

176. Zenewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, Murphy AJ, Karow M, Flavell RA. Interleukin-22 but not interleukin-17 provides

protection to hepatocytes during acute liver inflammation. *Immunity* 2007; **27**: 647–659.

177. Chiou T-J, Chu T-H, Wu W-H, Chu S-T, Tzeng W-F. Expansion and reactivation of Human naïve T-cells transition into CD4+CD25+FoxP3+CD127-regulatory T cells, in vitro, for the potential use of graft-versus-host disease prevention. *Blood* 2016; **128**: 5729–5729.

178. Yoshimura A, Muto G. TGF- β function in immune suppression. *Curr Top Microbiol Immunol* 2011; **350**: 127–147.

179. Yagi H, Nomura T, Nakamura K, Yamazaki S, Kitawaki T, Hori S *et al.* Crucial role of FOXP3 in the development and function of human CD25+CD4+ regulatory T cells. *Int Immunol* 2004; **16**: 1643–1656.

180. Fujio K, Okamura T, Yamamoto K. The Family of IL-10-secreting CD4+ T cells. *Adv Immunol* 2010; **105**: 99–130.

181. Giannakopoulou CE, Sotiriou A, Dettoraki M, Yang M, Perlikos F, Toumpanakis D *et al.* Regulation of breathing pattern by IL-10. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2019; **317**: R190–R202.

182. Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annu Rev Immunol* 2011; **29**: 71–109.

183. Jutel M, Akdis C. T-cell regulatory mechanisms in specific immunotherapy. *Chem Immunol Allergy* 2008; **94**: 158–177.

184. Li MO. “T Cell-Produced Transforming Growth Factor- β 1 Controls T Cell Tolerance and Regulates Th1- and Th17-Cell Differentiation. *Immunity* 2007; **26**: 579–591.

185. Wang B, Norbury CC, Greenwood R, Bennink JR, Yewdell JW, Frelinger JA. Multiple paths for activation of naive CD8+ T cells: CD4-independent help. *J Immunol* 2001; **167**: 1283–1289.

186. Zhang N, Bevan MJ. CD8(+) T cells: foot soldiers of the immune system. *Immunity* 2011; **35**: 161–168.

187. Baars PA, Ribeiro Do Couto LM, Leusen JH, Hooibrink B, Kuijpers TW, Lens SM *et al.* Cytolytic mechanisms and expression of activation-regulating receptors on effector-type CD8+CD45RA+CD27-human T cells. *J Immunol* 2000; **165**: 1910–1917.

188. Groscurth P, Filgueira L. Killing mechanisms of cytotoxic T lymphocytes. *News Physiol Sci* 1998; **13**: 17–21.

189. Harty JT, Tvinnereim AR, White DW. CD8+ T cell effector mechanisms in resistance to infection. *Annu Rev Immunol* 2000; **18**: 275–308.

190. Gurlo T, von Grafenstein H. Antigen-independent cross-talk between macrophages and CD8+ T cells facilitates their cooperation during target destruction. *Int Immunol* 2003; **15**: 1063–1071.
191. Lin K, Chen S, Chen G. Role of memory T cells and perspectives for intervention in organ transplantation. *Front Immunol* 2015; **6**: 473.
192. Jameson SC, Masopust D. Understanding subset diversity in T cell memory. *Immunity* 2018; **48**: 214–226.
193. Mackay LK, Wynne-Jones E, Freestone D, Pellicci DG, Mielke LA, Newman DM *et al.* T-box transcription factors combine with the cytokines TGF- β and IL-15 to control tissue-resident memory T cell fate. *Immunity* 2015; **43**: 1101–1111.
194. Alvarez F, Fritz JH, Piccirillo CA. Pleiotropic effects of IL-33 on CD4+ T cell differentiation and effector functions. *Front Immunol* 2019; **10**: 522.
195. Baumann C, Fröhlich A, Brunner TM, Holecska V, Pinschewer DD, Löhning M. Memory CD8+ T cell protection from viral reinfection depends on interleukin-33 alarmin signals. *Front Immunol* 2019; **10**: 1833.
196. Szabo PA, Miron M, Farber DL. Location, location, location: Tissue resident memory T cells in mice and humans. *Sci Immunol* 2019; **4**: eaas9673.
197. Klicznik MM, Benedetti A, Gail LM, Varkhande SR, Holly R, Laimer M *et al.* A novel humanized mouse model to study the function of human cutaneous memory T cells in vivo in human skin. *Sci Rep* 2020; **10**: 11164.
198. Martin MD, Badovinac VP. Defining memory CD8 T cell. *Front Immunol* 2018; **9**: 2692.
199. Khan WN, Wright JA, Kleiman E, Boucher JC, Castro I, Clark ES. B-lymphocyte tolerance and effector function in immunity and autoimmunity. *Immunol Res* 2013; **57**: 335–353.
200. Allman D, Pillai S. Peripheral B cell subsets. *Curr Opin Immunol* 2008; **20**: 149–157.
201. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* 2008; **112**: 1570–1580.
202. Doherty DG, Melo AM, Moreno-Olivera A, Solomos AC. Activation and regulation of B cell responses by invariant natural killer T cells. *Front Immunol* 2018; **9**: 1360.
203. Fujihara C, Williams JA, Watanabe M, Jeon H, Sharrow SO, Hodes RJ. T cell-B cell thymic cross-talk: maintenance and function of thymic

B cells requires cognate CD40-CD40 ligand interaction. *J Immunol* 2014; **193**: 5534–5544.

204. Stebegg M, Kumar SD, Silva-Cayetano A, Fonseca VR, Linterman MA, Graca L. Regulation of the germinal center response. *Front Immunol* 2018; **9**: 2469.

205. Palm A-KE, Henry C. Remembrance of things past: Long-term B cell memory after infection and vaccination. *Front Immunol* 2019; **10**: 1787.

206. Hoffman W, Lakkis FG, Chalasani G. B cells, antibodies, and more. *Clin J Am Soc Nephrol* 2016; **11**: 137–154.

207. Grönwall C, Vas J, Silverman GJ. Protective roles of natural IgM antibodies. *Front Immunol* 2012; **3**: 66.

208. Suzuki M, Kato C, Kato A. Therapeutic antibodies: their mechanisms of action and the pathological findings they induce in toxicity studies. *J Toxicol Pathol* 2015; **28**: 133–139.

209. Kapoor MC, Ramachandran TR. Inflammatory response to cardiac surgery and strategies to overcome it. *Ann Card Anaesth* 2004; **7**: 113–128.

210. Laudanski K, Zawadka M, Polosak J, Modi J, DiMeglio M, Gutsche J *et al.* Acquired immunological imbalance after surgery with cardiopulmonary bypass due to epigenetic over-activation of PU.1/M-CSF. *J Transl Med* 2018; **16**. doi:10.1186/s12967-018-1518-3.

211. Wan S, DeSmet J-M, Barvais L, Goldstein M, Vincent J-L, LeClerc J-L. Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; **112**: 806–811.

212. Day JRS, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Int J Surg* 2005; **3**: 129–140.

213. Warren OJ. The Inflammatory Response to Cardiopulmonary Bypass: Part 1-Mechanisms of Pathogenesis. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 2009; **23**: 223–231.

214. Edmunds LH Jr. Why cardiopulmonary bypass makes patients sick: strategies to control the blood-synthetic surface interface. *Adv Card Surg* 1995; **6**: 131–167.

215. Smith EE, Naftel DC, Blackstone EH, Kirklin JW. Microvascular permeability after cardiopulmonary bypass. An experimental study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; **94**: 225–233.

216. Rossi M, Sganga G, Mazzone M, Valenza V, Guarneri S, Portale G *et al.* Cardiopulmonary bypass in man: role of the intestine in a self-limiting

inflammatory response with demonstrable bacterial translocation. *Ann Thorac Surg* 2004; **77**: 612–618.

217. Gaudriot B, Uhel F, Gregoire M, Gacouin A, Biedermann S, Roisne A *et al.* Immune dysfunction after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: Beneficial effects of maintaining mechanical ventilation. *Shock* 2015; **44**: 228–233.

218. Albertsmeier M, Quaiser D, von Dossow-Hanfstingl V, Winter H, Faist E, Angele MK. Major surgical trauma differentially affects T-cells and APC. *Innate Immun* 2015; **21**: 55–64.

219. Giakoumidakis K, Fotos NV, Patelarou A, Theologou S, Argiriou M, Chatziefstratiou AA *et al.* Perioperative neutrophil to lymphocyte ratio as a predictor of poor cardiac surgery patient outcomes. *Pragmat Obs Res* 2017; **8**: 9–14.

220. Wang Q, Li J, Wang X. The neutrophil-lymphocyte ratio is associated with postoperative mortality of cardiac surgery. *J Thorac Dis* 2021; **13**: 67–75.

221. Rudensky B, Yinnon AM, Shutin O, Broide E, Wiener-Well Y, Bitran D *et al.* The cellular immunological responses of patients undergoing coronary artery bypass grafting compared with those of patients undergoing valve replacement. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; **37**: 1056–1062.

222. Dieterlen M-T, Bittner HB, Tarnok A, Garbade J, Dhein S, Mohr FW *et al.* Flow cytometric evaluation of T cell activation markers after cardiopulmonary bypass. *Surg Res Pract* 2014; **2014**: 801643.

223. Shakhbar 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.

224. Lachmann G, von Haefen C, Kurth J, Yuerek F, Spies C. Innate immunity recovers earlier than acquired immunity during severe postoperative immunosuppression. *Int J Med Sci* 2018; **15**: 1–9.

225. Munford RS, Pugin J. Normal responses to injury prevent systemic inflammation and can be immunosuppressive. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; **163**: 316–321.

226. Delogu G, Moretti S, Antonucci A, Marcellini S, Masciangelo R, Famularo G *et al.* Apoptosis and surgical trauma: dysregulated expression of death and survival factors on peripheral lymphocytes. *Arch Surg* 2000; **135**: 1141–1147.

227. Tatsumi H, Ura H, Ikeda S, Yamaguchi K, Katsuramaki T, Asai Y *et al.* Surgical influence on TH1/TH2 balance and monocyte surface antigen

expression and its relation to infectious complications. *World J Surg* 2003; **27**: 522–528.

228. Naldini A, Borrelli E, Cesari S, Giomarelli P, Toscano M. In vitro cytokine production and T-cell proliferation in patients undergoing cardiopulmonary by-pass. *Cytokine* 1995; **7**: 165–170.

229. Markewitz A, Faist E, Lang S, Hültner L, Weinhold C, Reichart B. An imbalance in T-helper cell subsets alters immune response after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 1996; **10**: 61–67.

230. Franke A, Lante W, Fackeldey V, Becker HP, Thode C, Kuhlmann WD *et al.* Proinflammatory and antiinflammatory cytokines after cardiac operation: different cellular sources at different times. *Ann Thorac Surg* 2002; **74**: 363–70; discussion 370-1.

231. Franke A, Lante W, Kurig E, Zöller LG, Weinhold C, Markewitz A. Hyporesponsiveness of T cell subsets after cardiac surgery: a product of altered cell function or merely a result of absolute cell count changes in peripheral blood? *Eur J Cardiothorac Surg* 2006; **30**: 64–71.

232. Ankersmit HJ, Tugulea S, Spanier T, Weinberg AD, Artrip JH, Burke EM *et al.* Activation-induced T-cell death and immune dysfunction after implantation of left-ventricular assist device. *Lancet* 1999; **354**: 550–555.

233. Firstenberg M, Bouchard T, Subichin M. Fifty years of cardiac surgery: Innovation, evolution, and revolution in cardiovascular therapies. *Int J Acad Med* 2019; **5**: 156.

234. Parolari A, Pesce LL, Trezzi M, Loardi C, Kassem S, Brambillasca C *et al.* Performance of EuroSCORE in CABG and off-pump coronary artery bypass grafting: single institution experience and meta-analysis. *Eur Heart J* 2009; **30**: 297–304.

235. Yap C-H, Reid C, Yü M, Rowland MA, Mohajeri M, Skillington PD *et al.* Validation of the EuroSCORE model in Australia. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006; **29**: 441–6; discussion 446.

236. Graham A, Brown CH IV. Frailty, aging, and cardiovascular surgery. *Anesth Analg* 2017; **124**: 1053–1060.

237. Macdonald PS, Gorrie N, Brennan X, Aili SR, De Silva R, Jha SR *et al.* The impact of frailty on mortality after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2021; **40**: 87–94.

238. Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J *et al.* Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001; **56**: M146-56.

239. Mitnitski AB, Mogilner AJ, Rockwood K. Accumulation of deficits as a proxy measure of aging. *ScientificWorldJournal* 2001; **1**: 323–336.
240. Clegg A, Young J, Iliffe S, Rikkert MO, Rockwood K. Frailty in elderly people. *Lancet* 2013; **381**: 752–762.
241. Rockwood K, Mitnitski A. Frailty in relation to the accumulation of deficits. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2007; **62**: 722–727.
242. Afilalo J, Eisenberg MJ, Morin J-F, Bergman H, Monette J, Noiseux N *et al*. Gait speed as an incremental predictor of mortality and major morbidity in elderly patients undergoing cardiac surgery. *J Am Coll Cardiol* 2010; **56**: 1668–1676.
243. Chung CJ, Wu C, Jones M, Kato TS, Dam TT, Givens RC *et al*. Reduced handgrip strength as a marker of frailty predicts clinical outcomes in patients with heart failure undergoing ventricular assist device placement. *J Card Fail* 2014; **20**: 310–315.
244. Morley JE, Vellas B, van Kan GA, Anker SD, Bauer JM, Bernabei R *et al*. Frailty consensus: a call to action. *J Am Med Dir Assoc* 2013; **14**: 392–397.
245. Tanaka S, Ando K, Kobayashi K, Seki T, Hamada T, Machino M *et al*. Low bioelectrical impedance phase angle is a significant risk factor for frailty. *Biomed Res Int* 2019; **2019**: 6283153.
246. Norman K, Stobäus N, Pirlich M, Bosy-Westphal A. Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis - Clinical relevance and applicability of impedance parameters. *Clinical Nutrition* 2012; **31**: 854–861.
247. Tanaka S, Ando K, Kobayashi K, Hida T, Ito K, Tsushima M *et al*. A low phase angle measured with bioelectrical impedance analysis is associated with osteoporosis and is a risk factor for osteoporosis in community-dwelling people: the Yakumo study. *Arch Osteoporos* 2018; **13**: 39.
248. Tanaka S, Ando K, Kobayashi K, Hida T, Seki T, Hamada T *et al*. The decrease in phase angle measured by bioelectrical impedance analysis reflects the increased locomotive syndrome risk in community-dwelling people: The Yakumo study. *Mod Rheumatol* 2019; **29**: 496–502.
249. Tanaka S, Ando K, Kobayashi K, Seki T, Hamada T, Machino M *et al*. The decreasing phase angles of the entire body and trunk during bioelectrical impedance analysis are related to locomotive syndrome. *J Orthop Sci* 2019; **24**: 720–724.

250. Máttar JA. Application of total body bioimpedance to the critically ill patient. Brazilian Group for Bioimpedance Study. *New Horiz* 1996; **4**: 493–503.
251. Zdolsek HJ, Lindahl OA, Sjöberg F. Non-invasive assessment of fluid volume status in the interstitium after haemodialysis. *Physiol Meas* 2000; **21**: 211–220.
252. Visser M, van Venrooij LMW, Wanders DCM, de Vos R, Wisselink W, van Leeuwen PAM *et al*. The bioelectrical impedance phase angle as an indicator of undernutrition and adverse clinical outcome in cardiac surgical patients. *Clin Nutr* 2012; **31**: 981–986.
253. Mullie L, Obrand A, Bendayan M, Trnkus A, Ouimet M-C, Moss E *et al*. Phase angle as a biomarker for frailty and postoperative mortality: The BICS study. *J Am Heart Assoc* 2018; **7**: e008721.
254. Wilhelm-Leen ER, Hall YN, Horwitz RI, Chertow GM. Phase angle, frailty and mortality in older adults. *J Gen Intern Med* 2014; **29**: 147–154.
255. Anja B-W. Phase angle from bioelectrical impedance analysis: population reference values by age, sex, and body mass index. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 2006; **30**: 309–316.
256. Bosy-Westphal A, Danielzik S, Dörhöfer R-P, Later W, Wiese S, Müller MJ. Phase angle from bioelectrical impedance analysis: Population reference values by age, sex, and body mass index. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2006; **30**: 309–316.
257. Fedarko NS. The biology of aging and frailty. *Clin Geriatr Med* 2011; **27**: 27–37.
258. Tchkonina T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, Van Deursen J, Lustgarten J, Scrbale H *et al*. Fat tissue, aging, and cellular senescence: Fat tissue and aging. *Aging Cell* 2010; **9**: 667–684.
259. Lamberts SWJ, van den Beld AW, van der Lely A-J. The endocrinology of aging. *Science* 1997; **278**: 419–424.
260. Leng SX, Xue Q-L, Tian J, Walston JD, Fried LP. Inflammation and frailty in older women: Inflammation and frailty. *J Am Geriatr Soc* 2007; **55**: 864–871.
261. Sanders JL, Boudreau RM, Fried LP, Walston JD, Harris TB, Newman AB. Measurement of organ structure and function enhances understanding of the physiological basis of frailty: The cardiovascular health study: Frailty and multisystem physiological function. *J Am Geriatr Soc* 2011; **59**: 1581–1588.

262. Fielding RA. Editorial: Sarcopenia, frailty, and Gero-science: A decade of progress and a bright future of discovery. *J Frailty Aging* 2021; **10**: 82–83.
263. Leng SX, Hung W, Cappola AR, Yu Q, Xue Q-L, Fried LP. White blood cell counts, insulinlike growth factor-1 levels, and frailty in community-dwelling older women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009; **64A**: 499–502.
264. Walston J. Frailty and activation of the inflammation and coagulation systems with and without clinical comorbidities<subtitle>results from the cardiovascular health study</subtitle>. *Arch Intern Med* 2002; **162**: 2333.
265. Hernandez A, Shaw AD. Age and inflammation after cardiac surgery. *Br J Anaesth* 2017; **119**: 562–563.
266. Mahmoud NN, Turpin RS, Yang G, Saunders WB. Impact of surgical site infections on length of stay and costs in selected colorectal procedures. *Surg Infect (Larchmt)* 2009; **10**: 539–544.
267. Bharadwaj S, Trivax B, Tandon P, Alkam B, Hanouneh I, Steiger E. Should perioperative immunonutrition for elective surgery be the current standard of care?: Table 1. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2016; **4**: 87–95.
268. Cruzat V, Macedo Rogero M, Noel Keane K, Curi R, Newsholme P. Glutamine: Metabolism and immune function, supplementation and clinical translation. *Nutrients* 2018; **10**: 1564.
269. Ardawi MS, Newsholme EA. Maximum activities of some enzymes of glycolysis, the tricarboxylic acid cycle and ketone-body and glutamine utilization pathways in lymphocytes of the rat. *Biochem J* 1982; **208**: 743–748.
270. Curi R, Newsholme P, Marzuca-Nassr GN, Takahashi HK, Hirabara SM, Cruzat V *et al.* Regulatory principles in metabolism—then and now. *Biochem J* 2016; **473**: 1845–1857.
271. Cruzat VF, Pantaleão LC, Donato J Jr, de Bittencourt PIH Jr, Tirapegui J. Oral supplementations with free and dipeptide forms of L-glutamine in endotoxemic mice: effects on muscle glutamine-glutathione axis and heat shock proteins. *J Nutr Biochem* 2014; **25**: 345–352.
272. Fläring UB, Rooyackers OE, Wernerman J, Hammarqvist F. Glutamine attenuates post-traumatic glutathione depletion in human muscle. *Clin Sci (Lond)* 2003; **104**: 275–282.
273. Roth E. Nonnutritive effects of glutamine. *J Nutr* 2008; **138**: 2025S-2031S.

274. Rodas PC, Rooyackers O, Hebert C, Norberg Å, Wernerman J. Glutamine and glutathione at ICU admission in relation to outcome. *Clin Sci (Lond)* 2012; **122**: 591–597.
275. Lu C-Y, Shih Y-L, Sun L-C, Chuang J-F, Ma C-J, Chen F-M *et al.* The inflammatory modulation effect of glutamine-enriched total parenteral nutrition in postoperative gastrointestinal cancer patients. *Am Surg* 2011; **77**: 59–64.
276. Engel JM, Ruhs S, Mühling J, Katzer C, Müller M, Menges T *et al.* Perioperative application of L-alanyl-L-glutamine in cardiac surgery: effect on the polarized T cell cytokine expression. *Amino Acids* 2009; **36**: 519–527.
277. Newsholme P, Curi R, Pithon Curi TC, Murphy CJ, Garcia C, Pires de Melo M. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: its importance in health and disease. This review is written to mark the retirement of Prof. Eric A. Newsholme, University of Oxford, United Kingdom, and to acknowledge his contribution to the field of immune cell metabolism. *J Nutr Biochem* 1999; **10**: 316–324.
278. Li P, Yin Y-L, Li D, Woo Kim S, Wu G. Amino acids and immune function. *Br J Nutr* 2007; **98**: 237–252.
279. Hörig H, Spagnoli GC, Filgueira L, Babst R, Gallati H, Harder F *et al.* Exogenous glutamine requirement is confined to late events of T cell activation. *J Cell Biochem* 1993; **53**: 343–351.
280. Yaqoob P, Calder PC. Glutamine requirement of proliferating T lymphocytes. *Nutrition* 1997; **13**: 646–651.
281. Yaqoob P, Calder PC. Cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells: differential sensitivity to glutamine availability. *Cytokine* 1998; **10**: 790–794.
282. Shah AM, Wang Z, Ma J. Glutamine metabolism and its role in immunity, a comprehensive review. *Animals (Basel)* 2020; **10**: 326.
283. Ren W, Liu G, Yin J, Tan B, Wu G, Bazer FW *et al.* Amino-acid transporters in T-cell activation and differentiation. *Cell Death Dis* 2017; **8**: e2655–e2655.
284. Bishu S. Sensing of nutrients and microbes in the gut. *Curr Opin Gastroenterol* 2016; **32**: 86–95.
285. McCowen KC, Bistrian BR. Immunonutrition: problematic or problem solving? *Am J Clin Nutr* 2003; **77**: 764–770.
286. Braga M, Gianotti L, Vignali A, Carlo VD. Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation improves the immunometabolic

host response and outcome after colorectal resection for cancer. *Surgery* 2002; **132**: 805–814.

287. Braga M, Gianotti L, Nespoli L, Radaelli G, Di Carlo V. Nutritional approach in malnourished surgical patients: A prospective randomized study. *Arch Surg* 2002; **137**.

288. van der Hulst RRWJ, von Meyenfeldt MF, Deutz NEP, Soeters PB, Brummer RJM, von Kreel BK *et al*. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet* 1993; **341**: 1363–1365.

289. Kudsk KA, Tolley EA, DeWitt RC, Janu PG, Blackwell AP, Yeary S *et al*. Preoperative albumin and surgical site identify surgical risk for major postoperative complications. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2003; **27**: 1–9.

290. Visser M, Niessen HWM, Kok WEM, Cocchieri R, Wisselink W, van Leeuwen PAM *et al*. Nutrition before and during surgery and the inflammatory response of the heart: A randomized controlled trial. *J Nutr Metab* 2015; **2015**: 1–8.

291. Weimann A, Braga M, Carli F, Higashiguchi T, Hübner M, Klek S *et al*. ESPEN guideline: Clinical nutrition in surgery. *Clin Nutr* 2017; **36**: 623–650.

292. Stoppe C, Goetzenich A, Whitman G, Ohkuma R, Brown T, Hatzakorzian R *et al*. Role of nutrition support in adult cardiac surgery: a consensus statement from an International Multidisciplinary Expert Group on Nutrition in Cardiac Surgery. *Crit Care* 2017; **21**. doi:10.1186/s13054-017-1690-5.

293. Mullens W, Starling RC. Surgical treatment of chronic heart failure. In: *Heart Failure: A Companion to Braunwald's Heart Disease*. Elsevier, 2011, pp 802–817.

294. Mayhew D, Mendonca V, Murthy BVS. A review of ASA physical status - historical perspectives and modern developments. *Anaesthesia* 2019; **74**: 373–379.

295. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *J Chronic Dis* 1987; **40**: 373–383.

296. Sundararajan V, Quan H, Halfon P, Fushimi K, Luthi J-C, Burnand B *et al*. Cross-national comparative performance of three versions of the ICD-10 Charlson index. *Med Care* 2007; **45**: 1210–1215.

297. Quan H, Li B, Couris CM, Fushimi K, Graham P, Hider P *et al*. Updating and validating the Charlson comorbidity index and score for risk

adjustment in hospital discharge abstracts using data from 6 countries. *Am J Epidemiol* 2011; **173**: 676–682.

298. Dearani JA. Transparency and public reporting: Beyond the gathering storm. *World J Pediatr Congenit Heart Surg* 2020; **11**: 9–13.

299. Duchnowski P, Hryniewiecki T, Kuśmierczyk M, Szymanski P. Performance of the EuroSCORE II and the Society of Thoracic Surgeons score in patients undergoing aortic valve replacement for aortic stenosis. *J Thorac Dis* 2019; **11**: 2076–2081.

300. Swinkels BM, Plokker HW. Evaluating operative mortality of cardiac surgery: first define operative mortality. *Neth Heart J* 2010; **18**: 344–345.

301. Jacobs JP, Shahian DM, Prager RL, Edwards FH, McDonald D, Han JM *et al.* Introduction to the STS national database series. *Ann Thorac Surg* 2015; **100**: 1992–2000.

302. Kaufmann J, Kung E. Factors affecting cardiovascular physiology in cardi thoracic surgery: Implications for lumped-parameter modeling. *Front Surg* 2019; **6**: 62.

303. Gravlee GP, Shaw AD, Bartels K. *Hensley's practical approach to cardiothoracic anaesthesia*. 6th ed. Wolters Kluwer: Kingston upon Thames, England, 2019.

304. Li M, Yao D, Zeng X, Kasakovski D, Zhang Y, Chen S *et al.* Age related human T cell subset evolution and senescence. *Immun Ageing* 2019; **16**: 24.

305. Cristina M, Barbosa-Silva And Aluisio G, Barros JD. Bioelectrical impedance analysis in clinical practice: a new perspective on its use beyond body composition equations. *Current Opinion in. Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2005; **8**: 311–317.

306. Stapel SN, Looijaard WGPM, Dekker IM, Girbes ARJ, Weijs PJM, Oudemans-van Straaten HM. Bioelectrical impedance analysis-derived phase angle at admission as a predictor of 90-day mortality in intensive care patients. *Eur J Clin Nutr* 2018; **72**: 1019–1025.

307. Ko SJ, Cho J, Choi SM, Park YS, Lee C-H, Lee S-M *et al.* Phase angle and frailty are important prognostic factors in critically ill medical patients: A prospective cohort study. *J Nutr Health Aging* 2021; **25**: 218–223.

308. Kumar S, Dutt A, Hemraj S, Bhat S, Manipadybhima B. Phase angle measurement in healthy human subjects through bio-impedance analysis. *Iran J Basic Med Sci* 2012; **15**: 1180–1184.

309. Baumgartner RN, Chumlea WC, Roche AF. Bioelectric impedance phase angle and body composition. *Am J Clin Nutr* 1988; **48**: 16–23.
310. Ringaitiene D, Gineityte D, Vicka V, Zvirblis T, Norkiene I, Sipylaite J *et al.* Malnutrition assessed by phase angle determines outcomes in low-risk cardiac surgery patients. *Clin Nutr* 2016; **35**: 1328–1332.
311. Razzera EL, Marcadenti A, Rovedder SW, Alves FD, Fink J da S, Silva FM. Parameters of bioelectrical impedance are good predictors of nutrition risk, length of stay, and mortality in critically ill patients: A prospective cohort study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2020; **44**: 849–854.
312. Kyle U. Bioelectrical impedance analysis?part I: review of principles and methods. *Clin Nutr* 2004; **23**: 1226–1243.
313. Childs CE, Calder PC, Miles EA. Diet and immune function. *Nutrients* 2019; **11**: 1933.
314. Tourkochristou E, Triantos C, Mouzaki A. The influence of nutritional factors on immunological outcomes. *Front Immunol* 2021; **12**. doi:10.3389/fimmu.2021.665968.
315. Wernerman J. Glutamine supplementation to critically ill patients? *Crit Care* 2014; **18**: 214.
316. Karacabey K. Effect of regular exercise on health and disease. *Neuro Endocrinol Lett* 2005; **26**: 617–623.
317. Fukatsu K, Shineha R, Kawauchi Y, Saeki M, Nakayama M. Optimizing vitamin and trace element profiles in blood after gastrointestinal tract surgery by a new parenteral nutrition formula. *Ann Nutr Metab* 2019; **74**: 189–199.
318. Saygin O, Karacabey K, Ozmerdivenli R, Zorba E, Ilhan F, Bulut V. Effect of chronic exercise on immunoglobulin, complement and leukocyte types in volleyball players and athletes. *Neuro Endocrinol Lett* 2006; **27**: 271–276.
319. Vishwakarma S, Panigrahi C, Barua S, Sahoo M, Mandliya S. Food nutrients as inherent sources of immunomodulation during COVID-19 pandemic. *Lebenson Wiss Technol* 2022; **158**: 113154.
320. Seder CW, Raymond D, Wright CD, Gaisert HA, Chang AC, Becker S *et al.* The society of thoracic surgeons general thoracic surgery database 2018 update on outcomes and quality. *Ann Thorac Surg* 2018; **105**: 1304–1307.
321. Calder PC, Kew S. The immune system: a target for functional foods? *Br J Nutr* 2002; **88**: S165–S176.

322. Scott B. Blood transfusion in cardiac surgery: Is it appropriate? *Ann Card Anaesth* 2007; **10**: 108.
323. Hurwitz EE, Simon M, Vinta SR, Zehm CF, Shabot SM, Minhajuddin A *et al.* Adding examples to the ASA-Physical Status classification improves correct assignment to patients. *Anesthesiology* 2017; **126**: 614–622.
324. Lelubre C, Anselin S, Zouaoui Boudjeltia K, Biston P, Piagnerelli M. Interpretation of C-reactive protein concentrations in critically ill patients. *Biomed Res Int* 2013; **2013**: 1–11.
325. Pfäfflin A, Schleicher E. Inflammation markers in point-of-care testing (POCT). *Anal Bioanal Chem* 2009; **393**: 1473–1480.
326. Min JJ, Nam K, Kim TK, Kim HJ, Seo JH, Hwang HY *et al.* Relationship between early postoperative C-reactive protein elevation and long-term postoperative major adverse cardiovascular and cerebral events in patients undergoing off-pump coronary artery bypass graft surgery: a retrospective study. *Br J Anaesth* 2014; **113**: 895.
327. Piccoli M, Cerquetani E, Pastena G, Posteraro A, Amici E, Romeo MD *et al.* ‘Lone’ increase in C-reactive protein after cardiac surgery: prevalence, clinical characteristics, in-hospital course, and prognostic value. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2008; **15**: 482–487.
328. Gans SL, Atema JJ, van Dieren S, Groot Koerkamp B, Boermeester MA. Diagnostic value of C-reactive protein to rule out infectious complications after major abdominal surgery: a systematic review and meta-analysis. *Int J Colorectal Dis* 2015; **30**: 861–873.
329. Dorshkind K, Swain S. Age-associated declines in immune system development and function: causes, consequences, and reversal. *Curr Opin Immunol* 2009; **21**: 404–407.
330. De Fanis U, Wang GC, Fedarko NS, Walston JD, Casolaro V, Leng SX. T-lymphocytes expressing CC chemokine receptor-5 are increased in frail older adults: Ccr5+ t-lymphocytes and frailty. *J Am Geriatr Soc* 2008; **56**: 904–908.
331. Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. Human T cell development, localization, and function throughout life. *Immunity* 2018; **48**: 202–213.
332. Garrido-Rodríguez V, Herrero-Fernández I, Castro MJ, Castillo A, Rosado-Sánchez I, Galva MI *et al.* Immunological features beyond CD4/CD8 ratio values in older individuals. *Aging (Albany NY)* 2021; **13**: 13443–13459.

333. McBride JA, Striker R. Imbalance in the game of T cells: What can the CD4/CD8 T-cell ratio tell us about HIV and health? *PLoS Pathog* 2017; **13**: e1006624.
334. Boren E, Gershwin ME. Inflamm-aging: autoimmunity, and the immune-risk phenotype. *Autoimmun Rev* 2004; **3**: 401–406.
335. Bajnok A, Ivanova M, Rigó J, Toldi G. The distribution of activation markers and selectins on peripheral T lymphocytes in preeclampsia. *Mediators Inflamm* 2017; **2017**: 1–7.
336. Murray DR, Freeman GL. Proinflammatory cytokines: Predictors of a failing heart? *Circulation* 2003; **107**: 1460–1462.
337. Presbitero A, Quax R, Krzhizhanovskaya VV, Sloot PMA. Detecting critical transitions in the human innate immune system post-cardiac surgery. In: *Lecture Notes in Computer Science*. Springer International Publishing: Cham, 2020, pp 371–384.
338. Abbasciano RG, Lai FY, Roman MA, Rizzello A, Pathak S, Ramzi J *et al*. Activation of the innate immune response and organ injury after cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis of randomised trials and analysis of individual patient data from randomised and non-randomised studies. *Br J Anaesth* 2021; **127**: 365–375.
339. Guirao JJ, Cabrera CM, Jiménez N, Rincón L, Urrea JM. High serum IL-6 values increase the risk of mortality and the severity of pneumonia in patients diagnosed with COVID-19. *Mol Immunol* 2020; **128**: 64–68.
340. Sadar S, Kaspate D, Vyawahare N. Protective effect of L-glutamine against diabetes-induced nephropathy in experimental animal: Role of KIM-1, NGAL, TGF- β 1, and collagen-1. *Ren Fail* 2016; **38**: 1483–1495.
341. Esposito E, Mondello S, Di Paola R, Mazzon E, Italiano D, Paterniti I *et al*. Glutamine contributes to ameliorate inflammation after renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2011; **383**: 493–508.
342. Zhang W-X, Zhou L-F, Zhang L, Bao L, Wang C-C, Meng H-Y *et al*. Protective effects of glutamine preconditioning on ischemia-reperfusion injury in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; **10**: 78–82.
343. Stehle P, Kuhn KS. Glutamine: an obligatory parenteral nutrition substrate in critical care therapy. *Biomed Res Int* 2015; **2015**: 545467.
344. Soeters PB, Grecu I. Have we enough glutamine and how does it work A clinician's view. *Ann Nutr Metab* 2012; **60**: 17–26.
345. Raj DSC, Welbourne T, Dominic EA, Waters D, Wolfe R, Ferrando A. Glutamine kinetics and protein turnover in end-stage renal disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; **288**: E37-46.

346. Goeters C, Wenn A, Mertes N, Wempe C, Van Aken H, Stehle P *et al.* Parenteral L-alanyl-L-glutamine improves 6-month outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 2002; **30**: 2032–2037.
347. Wei X, Day AG, Ouellette-Kuntz H, Heyland DK. The association between nutritional adequacy and long-term outcomes in critically ill patients requiring prolonged mechanical ventilation: A multicenter cohort study. *Crit Care Med* 2015; **43**: 1569–1579.
348. Heyland DK, Dhaliwal R, Day AG, Muscedere J, Drover J, Suchner U *et al.* REducing Deaths due to OXidative Stress (The REDOXS© Study): rationale and study design for a randomized trial of glutamine and antioxidant supplementation in critically-ill patients. *Proc Nutr Soc* 2006; **65**: 250–263.
349. Heyland D, Muscedere J, Wischmeyer PE, Cook D, Jones G, Albert M *et al.* A randomized trial of glutamine and antioxidants in critically ill patients. *N Engl J Med* 2013; **368**: 1489–1497.
350. Heyland DK, Elke G, Cook D, Berger MM, Wischmeyer PE, Albert M *et al.* Glutamine and antioxidants in the critically ill patient: A post hoc analysis of a large-scale randomized trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2015; **39**: 401–409.
351. Stehle P, Ellger B, Kojic D, Feuersenger A, Schneid C, Stover J *et al.* Glutamine dipeptide-supplemented parenteral nutrition improves the clinical outcomes of critically ill patients: A systematic evaluation of randomised controlled trials. *Clin Nutr ESPEN* 2017; **17**: 75–85.
352. Bollhalder L, Pfeil AM, Tomonaga Y, Schwenkglenks M. A systematic literature review and meta-analysis of randomized clinical trials of parenteral glutamine supplementation. *Clin Nutr* 2013; **32**: 213–223.
353. Tao K-M, Li X-Q, Yang L-Q, Yu W-F, Lu Z-J, Sun Y-M *et al.* Glutamine supplementation for critically ill adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; : CD010050.
354. Singer P, Blaser AR, Berger MM, Alhazzani W, Calder PC, Casaer MP *et al.* ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit. *Clin Nutr* 2019; **38**: 48–79.
355. Weimann A, Braga M, Carli F, Higashiguchi T, Hübner M, Klek S *et al.* ESPEN practical guideline: Clinical nutrition in surgery. *Clin Nutr* 2021; **40**: 4745–4761.

PUBLIKACIJOS DISERTACIJOS TEMA

1. Svetikiene M, Ringaitiene D, Vezeliene J, Isajevas V, Trybe D, Vicka V, Malickaite R, Jurgauskiene L, Norkuniene J, Serpytis M, Sipylaite J. The efficacy of early postoperative enteral immunonutrition on T-lymphocyte count: A randomised control study in low-risk cardiac surgery patients. *Clin Nutr.* 2021 Feb;40(2):372-379. doi: 10.1016/j.clnu.2020.05.009. Epub 2020 May 15. PMID: 32513480.
2. Svetikienė M., Trybė D., Strioga M., Veželienė J., Isajevas V., Malickaitė R., Jurgauskienė L., Ringaitienė D., Šerpytis M. and Šipylaitė J. (2021) "Impact of Immunonutrition on T Cell Activation: A Randomized Control Study in Cardiac Surgery Patients", *Acta medica Lituanica*, 28(2), p. 16. doi: 10.15388/Amed.2021.28.2.16.0

PRANEŠIMAI TARPTAUTINĖSE KONFERENCIJOSE

1. Svetikiene M, Isajevas V, Vicka V, Rackauskaite S, Ringaitiene D, Sipylaite J. Nutritional immunomodulation and short-term postoperative outcomes in malnourished patients undergoing cardiac surgery. 8th International Baltic Congress of Anaesthesiology and Intensive care. 1-3 december 2016 Talinn.
2. Svetikiene M, Isajevas V, Vicka V, Rackauskaite S, Ringaitiene D, Sipylaite J. Nutritional immunomodulation in malnourished patients undergoing cardiac surgery. 8th International Baltic Congress of Anaesthesiology and Intensive care. 1-3 december 2016 Talinn.
3. Svetikienė Marija; Ringaitienė Donata; Veželienė Jevgenija; Trybė Dainius; Vicka Vaidas; Malickaitė, Radvilė; Jurgauskiene, Laimutė Genovaitė; Norkūnienė Jolita; Šerpytis Mindaugas; Šipylaitė Jūratė. Role of nutritional immunomodulation in immune responses in malnourished patients undergoing cardiac surgery. *Acta medica Lituanica*. Vilnius : Lietuvos mokslų akademijos leidykla. ISSN 1392-0138. eISSN 2029-4174. 2018, vol. 25, suppl. 1, p. 79.
4. Marija Svetikiene, Dainius Trybe, Vaidas Vicka, Jevgenija Vezeliene, Viktoras Isajevas, Radvile Malickaite, Laimute Jurgauskiene, Jolita Norkuniene, Donata Ringaitiene, Mindaugas Serpytis, Jurate Sipylaite. Role of nutritional immunomodulation in t-lymphocytes subpopulations responses in malnourished patients undergoing cardiac surgery. 9th International Baltic

congress of anaesthesiology, intensive care and pain management : 25-27 October 2018, Vilnius, Lithuania : abstract book / Lithuanian Society of Anaesthesiology and Intensive Care. Vilnius : 2018, p. 38. http://www.baltanest2018.com/user/_files/560/Poster%20Presentation.pdf.

5. Svetikienė Marija; Ringaitienė Donata; Vezeliene Jevgenija; Isajevas Viktoras; Trybė Dainius; Vicka Vaidas; Malickaitė Radvilė; Jurgauskienė Laimutė Genovaitė; Norkūnienė Jolita; Šerpytis Mindaugas; Šipylaitė Jūratė. The efficacy of early postoperative enteral immunonutrition on T-lymphocyte count in cardiac surgery patient. 2020 ESPEN Virtual Congress September 19-21. Clinical nutrition research symposium. Virtual presentation. <https://espencongress.com/wp-content/uploads/2020/09/Clinical-nutrition-research-symposium.pdf>.

APIE AUTORIŲ

Marija Svetikienė

Kryžiokų sodų 9 str. 13, Vilnius, Lietuva, 80445.

Marija.svetikiene@santa.lt +37061225352

Tautybė Lietuvė

Gimimo data 1986 01 20

Išsilavinimas

2004 Baigė Alytaus Jotvingių gimnaziją

2010 Baigė Kauno medicinos universitetą Medicinos fakultetą

2014 Baigė Anesteziologijos – reanimatologijos rezidentūrą
Vilniaus Universitete

Oranizacijos

Nuo 2010 Lietuvos anesteziologų-reanimatologų draugijos narė.

Nuo 2012 Europos Anesteziologų draugijos narė

Darbo patirtis

2013-2014 gydytoja asistentė VUL Santaros klinikų II-ame
Reanimacijos ir Intensyvios terapijos skyriuje.

Nuo 2014 gydytoja anesteziologė reanimatologė VUL Santaros klinikų
II-ame Reanimacijos ir Intensyvios terapijos skyriuje.

Kiti gebėjimai

Kalbos: lietuvių (gimtoji kalba), anglų (labai gerai), rusų (gerai), prancūzų (pagrindai).

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius
El. p. info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt
bookshop.vu.lt, journals.vu.lt
Tiražas 15 egz.