

LATVIJAS UNIVERSITĀTES
RAKSTI

750. SĒJUMS

Medicīna

SCIENTIFIC PAPERS
UNIVERSITY OF LATVIA

VOLUME 750

Medicine

**SCIENTIFIC PAPERS
UNIVERSITY OF LATVIA**

VOLUME 750

Medicine

UNIVERSITY OF LATVIA

LATVIJAS UNIVERSITĀTES
RAKSTI

750. SĒJUMS

Medicīna

LATVIJAS UNIVERSITĀTE

UDK 61(082)
Me 082

Galvenā redaktore *Dr. habil. med. prof. Renāte Ligere*

Redkolēģija

Dr. habil. med. asoc. prof. Igors Aksiks (LU Medicīnas fakultāte)

Ph. D. prof. Pēteris Alberts (Zviedrija)

Dr. habil. med. Juris Bērziņš (Rīgas Austrumu slimnīca, Onkoloģijas centrs)

Ph. D. prof. Irje Kollans (Somija, Turku Universitāte)

Dr. habil. biol. prof. Ruta Muceniece (LU Medicīnas fakultāte)

Ph. D. prof. Zaiga Priede-Kalniņš (ASV)

Dr. habil. biol. prof. Nikolajs Sjakste (LU Medicīnas fakultāte)

Dr. habil. med. prof. Immanuels Taivans (LU Medicīnas fakultāte)

Dr. habil. med. prof. Uldis Vikmanis (LU Medicīnas fakultāte)

Dr. habil. med. prof. Aija Žileviča (LU Medicīnas fakultāte)

Latviešu valodas literārās redaktore **Gita Bērziņa, Ieva Račko, Indra Orleja**

Angļu valodas literārā redaktore **Māra Anteniške**

Maketu veidojis **Arnis Čakstiņš**

Visi krājumā ievietotie raksti ir recenzēti.

Pārpublicēšanas gadījumā nepieciešama Latvijas Universitātes atļauja.

Citējot atsauce uz izdevumu obligāta.

© Latvijas Universitāte, 2009

ISSN 1407-2157

ISBN 978-9984-45-102-2

Saturs/Contents

I. Ebela, E. Biķis, I. Rumba-Rozenfelde

Bērnu mirstības vecumā līdz pieciem gadiem Latvijā cēloņsakarības un samazināšanas iespējas starptautiskā kontekstā / *Under-Five Child Mortality in Latvia: Causal Relationships and Reduction Possibilities in an International Context* 8

A. Melbārde-Kelme, E. Dimiņa, A. Balode, U. Dumpis

S. aureus un *E. coli* bakterēmijas P. Stradiņa klīniskajā universitātes slimnīcā / *Bloodstream Infections Caused by Staphylococcus Aureus and Escherichia Coli at Pauls Stradiņš Clinical University Hospital* 28

J. Misiņš, A. Siviņš, A. Stengrevics, V. Krūmiņš, V. Boka, M. Leja

Saslimstība ar kuņģa vēzi Latvijā / *Gastric Cancer in Latvia*..... 36

A. Dzalbs, I. Balcere, V. Pīrāgs

Somatostatīna analoģu efektivitāte akromegālijas ārstēšanā / *Efficacy of Somatostatin Analogues in the Treatment of Acromegaly* 46

K. Kupčs, J. Šavlovskis, H. Kidikas, I. Aksiks, A. Vinogradovs, A. Veiss

Balona remodelējošās tehnikas efektivitāte intrakraniālu aneirismu embolizācijā: viena centra pieredze / *Balloon Remodeling Technique in Treatment of Intracranial Aneurysms: a Single Center Experience* 65

I. Rumba-Rozenfelde, I. Trapiņa, J. Sokolovska, N. Sjakste, O. Sugoka un T. Sjakste

Juvenilā artrīta riska asociācija ar 14q13.2 reģiona mikrosatelītu polimorfismu Latvijas populācijā / *Association of Juvenile Idiopathic Arthritis with Microsatellite Polymorphism of the 14q13.2 Region in Latvian Population* 76

A. Miščuks, T. Kauliņš, E. Vasiļevskis, M. Mihelsons

Reģionālās anestēzijas kvalitātes monitorings un tā optimizācija / *Quality Control of Regional Anesthesia and Optimisation of the Monitoring* 88

M. Dzintare, L. Baumanē, D. Meirena, V. Gordjušina, J. Šaripova, L. Ļauberte, N. Sjakste

Nanodimanti pazemina NO koncentrāciju dažādos audos žurkām ar lipopolisaharīdu izraisīta iekaisuma apstākļos / *Nanodiamonds lower NO Concentration in Different Tissues of Rats during Lipopolysaccharide-Induced Inflammation* 94

R. Vilšķērsts, L. Zvejniece, I. Strogova, J. Alijeva, R. Muceniece, M. Dambrova un E. Liepiņš

Mildronāts samazina L-karnitīna koncentrāciju, bet neietekmē glikozes uzņemšanu un ar to saistīto gēnu ekspresiju peļu smadzenēs / *Mildronate Decreases L-Carnitine Concentration, but Does Not Influence Glucose Uptake and Related Gene Expression in Mouse Brain* 106

U. Riekstiņa, V. Parfejevs, R. Muceniece, I. Čakstiņa, M. Borodušķis, J. Ancāns

FGF-2 loma dermas cilmes šūnu populācijas pašatjaunošanās regulācijā *in vitro* / *FGF-2 Effect on the Self-Renewal of Human Dermal Stem Cell Population in vitro*..... 117

G. Strazda, N. Jurka, M. Bukovskis, Z. Balode, S. Isajevs, U. Kopeika, I. Taivans

Neinvazīvu izmeklēšanas metožu salīdzinājums agrīnas bronhiālās astmas diagnostikā / *Comparison of Non-Invasive Diagnostic Methods in the Evaluation of Patients with Suspected Bronchial Asthma* 129

A. Sudraba, K. Funka, L. Engstrands, D. Jančausts, L. Jonaitis, L. Kupčinskis, L. Jaw-Town, D. Rudzīte, M. Leja Ierasto <i>Helicobacter pylori</i> testu izvērtēšana pacientiem ar vai bez kuņģa gļotādas atrofijas / <i>Evaluation of Routine Helicobacter Pylori Tests in Patients with and without Gastric Mucosal Atrophy</i>	146
L. Ozola, E. Rostoka, U. Vikmanis, Ž. Zvirbule, A. Linē, I. Nakurte, I. Plinte, P. Mekšs, A. Sudraba, M. Leja Elptestu datu un CYP 450 polimorfisma izvērtējums kā iespējamā izvēles metode paklitakselu saturošās ķīmijterapijas efektivitātes un drošības izvērtēšanā / <i>Evaluation of Breath Test Data and CYP450 Polymorphism for Estimation of Efficiency and Safety of Paclitaxel Chemotherapy</i>	153
J. Pupure, S. Isajevs, A. Kratovska, V. Gordjušina, I. Taivans, J. Rumaks, D. Svirina, L. Viksna, I. Kalviņš, V. Kluša <i>Mildronate Protects from Azidothymidine-Induced Hepatotoxicity in Mice Liver / Mildronāta protektīvie efekti azidotimidīna izraisītajā hepatotoksicitātē pelēm</i>	160
J. Markovs, B. Rozentāle, G. Knipše, N. Bērziņa <i>Oxidative Stress and Hepatocyte Hypertrophy in Chronic Hepatitis C / Oksidatīvais stress un hepatocītu hipertrofija hroniska C hepatīta gadījumā</i>	171
K. Vrubļevska, R. Muceniece, U. Riekstiņa, I. Čakstiņa, K. Jēkabsons, J. Ancāns Gamma-aminosviestskābes receptora A ligandu efekti uz cilvēku dermas cilmes šūnu kultivēšanu <i>in vitro</i> / <i>Effects of Gamma-Aminobutyric Acid Receptor A Ligands on Human Dermal Stem Cell Propagation in vitro</i>	176
H. Kārklīņa, Dž. Krūmiņa, G. Knipše, I. Kokare, J. Valeinis Latvijas pirmsskolas un jaunākā skolas vecuma bērnu barojuma pakāpes izmaiņas 20. gadsimtā / <i>The Secular Changes of Nutritional Level in Children of Latvia Aged 5–12 in the 20th Century</i>	185
Liāna Pļaviņa Militārpersonu fiziskās izturības un fiziskās sagatavotības raksturojums / <i>Characteristics of Physical Preparedness and Endurance of Military Personnel</i>	195
K. Vrubļevska, A. Bulajeva, K. Jēkabsons, L. Krīgere, U. Riekstiņa, R. Muceniece Psihotropo zāļu izrakstīšana un izsniegšana Rīgas aptiekās / <i>Prescription and Dispensing of Psychotropic Drugs through Community Pharmacies in Riga</i>	205
M. Kalniņa, A. Dālmane Dažādu specializēto šūnu Goldži kompleksa pārmaiņu morfofunkcionālais raksturojums / <i>Structural and Functional Aspects of the Golgi Complex of Some Specialized Cell Types</i>	213
I. Pontaga, M. Dzintare, A. Konrads Pusaudžu un jauniešu vecuma riteņbraucēju izturības spēju salīdzinājums / <i>Comparison of Endurance in Adolescent and Young Road Cyclists</i>	222
S. Remberga, D. Sniedze, I. Rumba-Rozenfelde Pārtikas alerģija bērniem – riska faktors alerģisko slimību attīstībai / <i>Food Allergy in Children – a Risk Factor for the Further Development of Allergic Diseases</i>	229
G. Knipše, L. Čupriks, U. Ciematnieks, A. Čuprika, M. Lesčinskis Vēdera muskulatūras elektromiogrāfiskā aktivitāte fizisko vingrinājumu laikā / <i>Electromyographic Activity of the Abdominal Muscles During Physical Exercises</i>	245

A. Žileviča, T. Tračevska Koagulāzes negatīvo stafilokoku (KONS) virulences izpēte / <i>Virulence Factors of Coagulase-Negative Staphylococci</i>	253
R. Ligere, A. Grigāns, P. Kučāns un I. Mežiņa Uzturs un hronisku slimību profilakse / <i>Food and Prophylaxis of Chronic Diseases</i>	261
P. Kangloo, R. Ligere <i>Clinical Differentiation between Myocardial Infarction and Angina in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus</i> / Miokarda infarkta un stenokardijas klīniskās pazīmes 2. tipa cukura diabēta pacientiem.....	279
G. Purkalne, U. Vikmanis Pirmsoperācijas ķīmijterapijas un molekulāro marķieru nozīme lokāli izplatīta krūts vēža ārstēšanā	300

**Bērnu mirstības vecumā līdz pieciem gadiem
Latvijā cēloņsakarības un samazināšanas iespējas
starptautiskā kontekstā**

*Under-Five Child Mortality in Latvia: Causal Relationships
and Reduction Possibilities in an International Context*

Inguna Ebela, Enoks Biķis, Ingrīda Rumba-Rozenfelde

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Raiņa bulvāris 19, Rīga, LV-1001
E-pasts: inguna.ebela@inbox.lv

Darbā aplūkotas atšķirības bērnu mirstības līdz piecu gadu vecumam spektrā dažādās pasaules valstīs un iespējas to mazināt galvenajās cēloņgrupās Latvijā no citu pieredzes. Pētījumā tiek salīdzināti Latvijas un starptautisko institūciju statistikas dati par bērnu mirstību atkarībā no IKP *per capita*, veselības budžeta *per capita*, Džini koeficienta, ģeogrāfiskās atrašanās vietas, pieejamības medicīnas pakalpojumiem, vides piesārņojuma, izglītības u. c. Tiek izmantota arī Nevalstisko organizāciju (NVO) sniegtā informācija. Pētījuma rezultāti liecina, ka mirstības iemesli vairākās cēloņgrupās ir skaidri identificējami un pastāv reālas iespējas bērnu mirstību ievērojami samazināt. Iezīmējas arī vairākas jomas, kurās nepieciešami padziļināti pētījumi, lai noteiktu precīzāku bērnu mirstības kopsakarību un iespējas to mazināt saistībā ar ūdens un gaisa piesārņojumu, grūtnieču un bērnu aprūpes kvalitāti konkrētos valsts reģionos u. c. Secinājumi ir bāze, uz kuras valsts un pašvaldību institūcijām, tajā skaitā veselības ministrijai, izstrādāt priekšlikumus par konkrētiem pasākumiem bērnu mirstības mazināšanai valstī.

Atslēgvārdi: bērnu mirstība līdz piecu gadu vecumam (BML5), zīdaiņu mirstība (ZM), tūkstošgades attīstības mērķi (MDG), jaundzimušo mirstība

Darba mērķis

Darba mērķis ir identificēt augstās bērnu līdz piecu gadu vecumam mirstības iemeslus, nolūkā atrast konkrētus, efektīvus, iespējami ekonomiskus risinājumus mirstības samazināšanai Latvijā galvenajās cēloņgrupās atbilstoši ANO Tūkstošgades attīstības mērķiem, lai piedāvātu šos risinājumus valsts un sabiedrības līmenī.

Darba uzdevumi

1. Noskaidrot, kurās pozīcijās Latvijā ir augstāka bērnu mirstība līdz piecu gadu vecumam nekā pārējās bijušās padomju ietekmes zonas valstīs laika posmā no 1990. līdz 2006. gadam.
2. Salīdzināt galvenos BML5 ietekmējošos faktorus Baltijas valstīs, Centrāl-eiropas/Austrumeiropas (CE/AE) valstīs, ASV un jaunattīstības valstīs.
3. Izmantojot progresīvāku valstu pieredzi, atrast iespējas samazināt BML5 Latvijā.

Materiāli un metodes

Autori salīdzināja bērnu mirstības līmeni un cēloņu spektru 0–5 gadu vecuma grupā dažādās valstīs atkarībā no IKP *per capita*, veselības budžeta *per capita*, atrašanās vietas Pasaules Veselības organizācijas (PVO) noteiktajā reģionā, sociālās noslāņošanās, pieejamības medicīnas pakalpojumiem, izglītības, vides piesārņojuma u. c. Darbā tika izmantoti Latvijas un starptautisko institūciju, kā arī starptautisku un lokālu nevalstisko organizāciju (NVO) dati – Veselības statistikas un medicīnas tehnoloģiju valsts aģentūras (VSMITA), PVO, ANO Bērnu fonda (UNICEF) MONEE pētījumu centra, ANO Attīstības programmas, Pasaules Bankas, starptautisko aģentūru EUROSTAT, PERISTAT, Latvijas Vides, ģeoloģijas un meteoroloģijas aģentūras izdevumu u. c. – sniegtā informācija. Darbā izmantota arī autoru publikācijās internetā pieejamā informācija par mirstības samazināšanas metodēm 0–5 gadu vecu bērnu grupā citās valstīs. Tabulas un attēli tika veidoti, kombinējot mūs interesējošos parametrus, ņemot tos no dažādām starptautiskām un Latvijas datubāzēm, kuras minētas starp literatūras avotiem. Konkrētas atsauces tāpat minētas skaidrojošā tekstā pie katra attēla.

Iegūtie rezultāti

Pieejamās literatūras izpēte sniedz šādus faktus:

1. 1990.–2006. gadā Latvijā ir lielākā zīdaiņu un bērnu mirstība 0–5 gadu vecuma grupā bijušā PSRS ietekmes reģiona vēlāko ES kandidātvalstu vidū (arī gandrīz visās pārējās vecuma grupās).
2. 2006.–2008. gadā Latvijā zīdaiņu un bērnu mirstība vecuma grupā 0–5 gadi ir lielākā visā Eiropas Savienībā, izņemot Rumāniju un Bulgāriju.
3. 20. gadsimta 90. gadu vidū bērnu mirstības līkne nemazinājās vairāku gadu garumā, veidojot paradoksālas grafiskas šķēres ar Lietuvas un Igaunijas līknēm – valstīs ar līdzīgu sociāli ekonomisko situāciju.
4. Mirstība ir augstāka vairākos reģionos, kuros ir zemāka pieejamība medicīnas pakalpojumiem, un vairākos reģionos, kuros ir nabadzīgākas mājsaimniecības.
5. Mirstība ir augstāka vairākos reģionos, kuros ir zemāki agrīni grūtnieču ultrasonogrāfijas apskates rādītāji.
6. Latvijā ir zemākais vidējā augstākā medicīnas personāla skaits daudzu ES valstu vidū.
7. Latvijā ir zemākais faktiskais kopējais veselības aprūpes budžets *per capita*, ņemot vērā inflāciju.
8. Latvijā ir ceturtais zemākais iekšzemes kopprodukts *per capita* ES-27.
9. Pastāv nosacīta korelācija starp IKP *per capita*, veselības budžetu *per capita* un bērnu mirstību, kas pieaug, ņemot vērā Džini koeficientu.
10. Latvijā ir vienas no lielākajām atšķirībām dažādo sociālo slāņu kvintiļu attiecību proporcijās ES-25.
11. Netiek sekmīgi pildīti ANO 2002. gada Ģenerālās Asamblejas noteiktie Tūkstošgades attīstības mērķi attiecībā uz bērnu mirstības un mātes mirstības

samazināšanu un netiek sekmīgi izpildīta 2003. gada Valsts veselības stratēģija attiecībā uz bērnu un mātes mirstību.

12. Latvijā ir no ES vidējiem rādītājiem ievērojami atšķirīga bērnu mirstības struktūra 0–5. g. v. bērnu grupā.
13. Identificētas galvenās 0–5 g. vecuma grupas bērnu mirstības cēloņgrupas, kurās reāli var samazināt mirstību, veicot vairākus ekonomiski mazietilpīgus pasākumus.
14. Latvijā kopš neatkarības atjaunošanas ilgstoši bija atšķirīgi veselības aprūpes finansēšanas principi Baltijas kaimiņvalstu reģionu ietvaros.
15. Latvijā netiek strādāts ar zīdaiņu pēkšņās nāves sindroms (ZPNS) prevenciju, nav efektīvu valsts līmeņa mehānismu mirstības mazināšanai no ārējas iedarbības cēloņiem, tajā skaitā traumām, noslīkšanas, bojāejas ugunsgrēkos, vardarbīgas rīcības, pamešanas novārtā.
16. Latvijā ievērojamā valsts teritorijā nav nodrošināts tīrs dzeramais ūdens un kanalizācija, pieaug gaisa un vides piesārņojums, bet nav pietiekami pētīta šo vides faktoru saistība ar iedzimtām anomālijām, zīdaiņu mirstību, tajā skaitā no ZPNS, un bērnu un grūtnieču veselību.

Ievads

Zīdaiņu un bērnu mirstība līdz piecu gadu vecumam (BML5) ir visā pasaulē atzīts un ietilpīgs valsts labklājības rādītājs (22, 30). BML5 aprēķina uz 1000 jaundzimušajiem kā iespējamību nomirt, nesusniedzot piecu gadu vecumu. Bērnu un mātes mirstība ir cieši saistīta ar vairākiem faktoriem – iekšzemes kopproduktu *per capita* (IKP), kopējo valsts budžetu veselības aprūpei *per capita*, medicīnas aprūpes pieejamību, trūcīgāko un turīgāko iedzīvotāju sociālo slāņu kvintiļu attiecību, iedzīvotāju izglītības līmeni, krūts barošanu, vides un dzeramā ūdens piesārņojumu u.c. (21,30). BML5 mirstība ir atkarīga arī no valsts ģeogrāfiskā stāvokļa un politiskās stabilitātes valstī (20, 22). PVO ir sadalījusi pasauli sešos reģionos atkarībā no iedzīvotāju mirstības un veselības rādītājiem, kuri ir saistīti ar minētajiem faktoriem. Saskaņā ar šo dalījumu Latvija pieder industrializēto valstu reģionam ar zemu bērnu mirstību. Taču savā reģionā mēs izceļamies negatīvā nozīmē. BML5 pasaulē ļoti atšķiras izplatības ziņā. 2006. gadā šajā vecuma grupā pasaulē vidējais mirstības rādītājs bija 72 no 1000 (7,2 %). Tajā skaitā vidējais BML5 rādītājs jaunattīstības valstīs bija 79 no 1000 (7,9 %), samazināts no 103 uz 1000 1990. gadā, bet industrializētajās valstīs – 6 (0,6 %), jeb 6 promiles (samazināts no 10 uz 1000 1990. g.). Starpība ir milzīga. Subsahāras Āfrikā viens no sešiem bērniem nomirst, nesusniedzot piekto dzimšanas dienu. Sjerraleonē, kurā ir augstākā bērnu mirstība (270 no 1000), bērnam ir simtreiz lielāka iespēja nomirt, nekā bērnam, kuram ir paveicies piedzimt Zviedrijā, kurā konstatē trīs nāves gadījumus uz 1000 dzīvi dzimušajiem (3 promiles). Latvijā šis rādītājs bija 9, Igaunijā – 7 promiles, kas vienotā pasaules kontekstā, protams, izskatās labi, tomēr ir trīsreiz vairāk nekā Zviedrijā un par trešdaļu vairāk nekā Igaunijā. Eiropas Savienības vidējais BML5 rādītājs tad bija 5,25, un Latvija to bija gandrīz divreiz pārsniegusi. Pētot pieejamos Latvijas un starptautiskos datus un ziņojumus par bērnu mirstību valstī un to ietekmējošiem

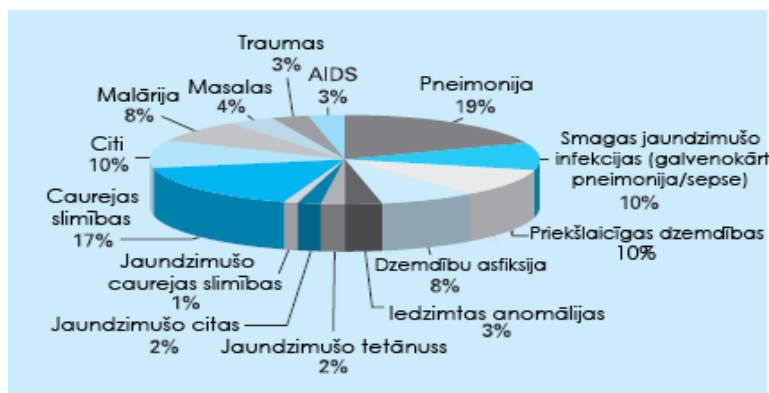
faktoriem, Latvija BML5 ziņā visai negatīvi izceļas ES-25 un pat Baltijas valstu kontekstā. Minētie fakti norāda uz nepieciešamību meklēt cēloņsakarības augstajai bērnu mirstībai Latvijā un iespējas to mazināt.

Bērnu līdz piecu gadu vecumam mirstība pasaulē un ANO Tūkstošgades attīstības mērķi

Saskaņā ar UNICEF datiem vairuma bērnu nāves gadījumu iemesli (un 70 % no tiem jaunattīstības valstīs) ir pieci cēloņi vai to kombinācija – akūtas elpošanas ceļu infekcijas, diareja, masalas, malārija, malnutrīcija. Divas trešdaļas no šiem bērnu nāves cēloņiem ir novēršami. Puse bērnu nomirst nepietiekama uztura, tīra dzeramā ūdens, sanitārijas trūkuma dēļ.

Bērnu līdz 5.g.v. nāves cēloņu spektrs

Pusei 0-5.g.v. pasaulē nomirušo bērnu viens no nāves cēloņiem bija nepietiekams uzturs



1. attēls. Bērnu līdz 5 g. v. nāves cēloņu spektrs pasaulē. Dati un datu prezentācija no *State of the World's Children 2008 (UNICEF)*, attēls nr. 1.8. Tulkots latviski

Figure 1. Global distribution of cause-specific mortality among children under five in the world. Data and data presentation source: *State of the World's Children 2008 (UNICEF)*, Figure 1.8. Translated to Latvian

Tūkstošgades attīstības mērķi

1. Izskaust galēju nabadzību un badu
1. Panākt pamatizglītību visā pasaulē
2. Veicināt dzimumu līdztiesību
3. Samazināt bērnu mirstību
4. Uzlabot mātes veselību
5. Apkarot HIV/AIDS, malāriju, u. c. slimības
6. Nodrošināt vides ilgtspējīgumu
7. Pasaules partnerība attīstībai

Pētījumi pierāda, ka vairums bērnu dzīvību pasaulē varētu tikt izglābtas, nodrošinot vakcīnas, antibiotikas, pārtikas piedevas, ar insekticīdiem apsmidzinātus moskītu tīklus, krūts barošanu un pieeju primārajai veselības aprūpei. UNICEF 2008. gada fakti par bērniem norāda, ka 2006.–2016. gadā varētu izglābt vēl desmit miljonus dzīvību ar vakcinācijas palīdzību, kas maksātu vienu miljardu ASV dolāru gadā. Ja G8 valstis ANO Ģenerālās asamblejas noteiktos 0,7 % no IKP novirzītu veselības aprūpei Āfrikā, bet 0,36 % – attīstības sadarbībai, tad šo mērķi varētu sasniegt (23).

Savukārt industrializētajās valstīs galvenie bērnu nāves cēloņi ir atšķirīgi. Aptuveni divas trešdaļas nāves cēloņu ir saistīti ar noteiktiem jaundzimušo pirmo dzīves nedēļu stāvokļiem un iedzimtām anomālijām. Pārējie nāves iemesli ir slimības, ārējas iedarbes sekas un zīdaiņu pēkšņās nāves sindroms (11, 22).

Tomēr 0–5 g. v. bērnu grupā kopumā par galveno nāves iemeslu visā Eiropā tiek atzīts bērnu traumatisms (2). PVO norāda, ka 75 % bērnu traumatisma gadījumu ir novēršami, jo tas ir vecāku neuzmanības sekas (11).

2002. gadā ANO Ģenerālajā asamblejā Ņujorkā tika apstiprināti Tūkstošgades attīstības mērķi (*Millenium Development Goals – MDG*).

MDG4 nosaka valstu pienākumu līdz 2015. gadam par divām trešdaļām samazināt bērnu mirstību. MDG5 nosaka samazināt mātes mirstību. Lai varētu īstenot MDG, 2003. gadā tika izstrādāta Latvijas sabiedrības veselības attīstības stratēģija un MDG sasniegšanas monitorings. Valsts statistikas pēdējo gadu dati liek nopietni apšaubīt iespēju, ka Latvija varētu samazināt šos mirstības rādītājus saistībās noteiktajā apjomā. Tāpēc ļoti rūpīgi nepieciešams apzināt visas iespējas, kā tomēr stabili mazināt bērnu un mātes mirstību mūsu valstī, kā arī izklūt no trešās sliktākās vietas bērnu mirstības ziņā Eiropas Savienībā un pirmās vietas ES-25 ietvaros.

Dati par bērnu mirstību līdz 5 gadu vecumam saistībā ar valsts politikas nepilnībām Latvijas pārejas desmitgadē (1990.–2000. g.)

Iegūtie dati ļauj saredzēt Latvijas vietu bērnu mirstības ziņā starptautiskā kontekstā, kā arī zināmas iespējas mirstības samazināšanai, izvērtējot mehānismus, kuru dēļ mēs esam šādā situācijā. Kopš 90. gadu sākuma Latvija negatīvi izcēlās to Centrāleiropas un Austrumeiropas valstu vidū, kuras gatavojās kandidēt uz iestāšanos Eiropas Savienībā, un Latvijā bija sliktākie galvenie bērnu veselības un labklājības rādītāji. “Īpašas bažas radīja un turpina radīt fakts, ka Latvijā bērnu mirstības un daudzi citi rādītāji ir stabili ilglaicīgi sliktāki nekā Lietuvā un Igaunijā – abās Baltijas kaimiņvalstīs, kur sociālekonomiskā situācija, sabrūkot PSRS, bija līdzīga, bīstami pietuvojoties Rumānijai un Bulgārijai, kuras, cita starpā, arī tādēļ tika izslēgtas no ES paplašināšanas procesa līdz 2007. gadam. UNICEF 2001. gada ziņojumā “Pārmaiņu desmitgade” redzams, ka tolaik Latvijā ir augstākā zīdaiņu mirstība Baltijā, augstākā mātes mirstība – trīs reizes lielāka nekā Lietuvā vai Igaunijā (16, 20). Pat atpalikušajā Rumānijā tā bija zemāka. Bērnu mirstība līdz piecu gadu vecumam ar 13,6 promilēm bija augstākā Baltijā (tuvojoties Rumānijai un Bulgārijai) un tālu atpalika no Igaunijas un Lietuvas. Arī 5–14 gadu vecu zēnu mirstība (45 promiles) Latvijā bija lielāka nekā Lietuvā un Igaunijā. Kopš 1996. gada

Lietuva un Igaunija izcili progresēja, samazinot zīdaiņu mirstību, taču Latvijā diemžēl pozitīvs lūzums mirstības samazinājumā notika tikai 1999. gadā, kad mirstība strauji pazeminājās, tomēr joprojām paliekot augstāka nekā Lietuvā un Igaunijā, kā arī pārējās Eiropas Savienības kandidātvalstīs, izņemot vienīgi Rumāniju un Bulgāriju. Taču bērnu mirstība 15–19 gadu vecumā mūsu valstī bija augstākā Baltijā un pat divreiz lielāka nekā Bulgārijā un Rumānijā. Minētajā desmitgadē augstā bērnu mirstība un citi sliktie labklājības un veselības rādītāji visticamāk bija skaidrojami ar kļūdainu valsts politiku, jo, piemēram, laika posmā no 1992. līdz 1999. gadam budžets veselības aprūpei Latvijā pieauga tikai par 0,7 %, kamēr Lietuvā par 1,7 %, bet Igaunijā par 2,4 % (17, 20, 28). Atšķirīga bija arī veselības aprūpes faktiskā pieejamība, uz kuru norādīja iedzīvotāji – iegādāties kvalitatīvus medikamentus un/vai saņemt kvalificētu medicīnisko pakalpojumu līdzekļu trūkuma dēļ nevarēja atļauties gandrīz puse iedzīvotāju (17). Attiecīgi 90. gadu beigās no bērniem līdz piecu gadu vecumam absolūtā nabadzībā Latvijā dzīvoja 10 % bērnu, ļoti trūcīgi – 52,5 % bērnu, tajā pašā laikā Lietuvā – attiecīgi tikai 4,8 % un 34,7 %, bet visās citās reģiona valstīs – ievērojami mazāk bērnu (20). Veselības aprūpes pieejamību šajos Latvijas iedzīvotājiem sliktākajos apstākļos, salīdzinot ar Lietuvu un Igauniju, raksturo Norvēģijas FAFO institūta (*Fafo Institute for Applied International Studies*) pētījums, norādot uz lielo veselības aprūpes struktūru atšķirību trijās Baltijas valstīs. Lietuvā un Igaunijā vairums medicīnas pakalpojumu pieejami bez maksas, vai arī tos pilnībā nosedz apdrošināšana, un šajās valstīs tikai 10 % cilvēku, apmeklējot ārstu, bija jāmaksā. Savukārt Latvijā 80 % apmeklētāju nācās segt vai nu pacientu iemaksu vai visas izmaksas pilnībā. Profilaktiskās apskates izmantoja tikai 5 % iedzīvotāju Latvijā, bet Lietuvā un Igaunijā – divas reizes vairāk. Lai arī tolaik Lietuvā 98 % medicīnas aprūpes bija publiska, bet Igaunijā trešdaļa bija privātās rokās, tad tomēr abos gadījumos valsts bija tā, kura maksāja par aprūpi (5, 6, 13).

Situāciju vēl pasliktināja augstais bezdarba līmenis, jo starp zīdaiņu mirstību un bezdarba līmeni reģionos pastāv korelācija, kura tolaik Latvijā vidēji bija 0,78 (21).

Tādējādi sliktos bērnu mirstības, saslimstības un labklājības rādītājus pirmajos desmit neatkarības gados Baltijas valstu kontekstā noteica gan zemais veselības budžeta pieaugums, gan ierobežotā pieejamība medicīnas pakalpojumiem, gan iedzīvotāju salīdzinoši augstais nabadzības līmenis. Jāpiebilst, ka atbildīgie par veselības sfēru šajā laika posmā tāpat netika galā ar citiem saviem pienākumiem – ne krūts barošanas rādītāju paaugstināšanu, ne joda deficīta mazināšanu valstī, kas arī ir cieši ar bērnu mirstību un attīstību saistīti faktori bērnu grupā līdz pieciem gadiem. Tās bija valsts kļūdas, kas netika pieļautas Lietuvā un Igaunijā un kuras dārgi maksā Latvijas bērniem un sabiedrībai kopumā, atstājot smagas sekas arī uz situāciju jaunajā tūkstošgadē.

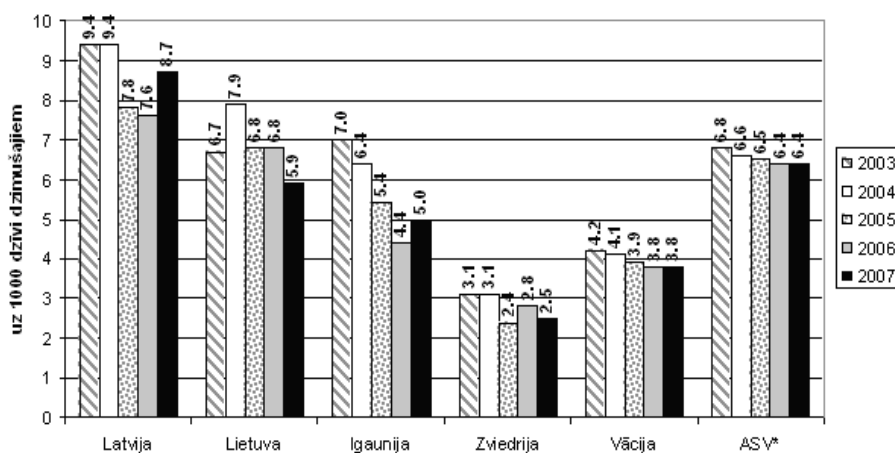
Bērnu mirstība Latvijā trešās tūkstošgades sākumā

1990.–2005. gadā zīdaiņu mirstība Latvijā gan ir samazināta uz pusi, taču tā joprojām ir augstākā ES-25 un augstākā Baltijas valstīs (22, 26, 27).

No 2005. līdz 2007. gadam zīdaiņu mirstība Latvijā ir pieaugusi kopumā par 21,43 %, tajā skaitā līdz 27. dzīves dienai – gada laikā par 28,8 %; bet no 28. dienas

līdz vienam gadam divu gadu laikā pieaugusi par 48,9 % (aprēķināts, izmantojot attiecīgos VSD datus).

Eurostat zīdaiņu mirstības tabulā (4) Latviju no Igaunijas rādītājiem šķir astoņas valstis, un tā ir aptuveni trīs reizes augstāka nekā Somijā, divreiz augstāka nekā Īrijā un pusotru reizi augstāka nekā Igaunijā. 2006. gadā Latvija sasniedza visu laiku zemāko zīdaiņu mirstības rādītāju – 7,6 promiles, taču 2007. gadā zīdaiņu mirstība atkal pieaugu līdz 8,8 promilēm, tātad par 16 % salīdzinājumā ar 2006. gadu. Pretstatā tam zīdaiņu mirstība Lietuvā un Igaunijā turpina pazemināties – Lietuvā no 6,8 uz 5,9, bet Igaunijā no 5,4 pat uz 4,4 promilēm, tomēr 2007. gadā pakāpjoties atpakaļ uz 5,0 attiecībā pret 1000 dzīvi dzimušajiem bērniem (4).



2. attēls. Zīdaiņu mirstība valstu salīdzinājumā. Attēls sastādīts no datiem: EUROSTAT; *U.S. Census Bureau, International Database (IDB)

Figure 2. Infant mortality by country. Graph composed using data of EUROSTAT, *U.S. Census Bureau, International Database (IDB)

2007. gadā ir gandrīz divkārtējais arī nedzīvi dzimušo bērnu skaits svara grupā no 2 līdz 2,5 kg. Mirušo skaits pirmajās 6 dzīves dienās arī pieaudzis par 22,5 % (no 80 uz 98 gadījumiem) (24).

Arī mātes mirstība 2007. gadā ir krasi pieaugusi – no 13,5 pirms gada līdz 25,8 nāves gadījumiem uz simt tūkstošiem, tādējādi zaudējot pārākuma pozīcijas, kuras Latvija bija ieguvusi iepretim Lietuvai un Igaunijai iepriekš (24).

Divu gadu laikā Latvijā par 59 % pieaudzis nāves gadījumu skaits no zīdaiņu pēkšņās nāves sindroma (ZPNS).

Pēdējo divu gadu laikā statistikā redzams, ka arī zīdaiņu mirstība no iedzimtām anomālīgām pieaugusi par 40 %, un tā veido gandrīz trešo daļu no visiem nāves cēloņiem (12, 24). Zīdaiņu mirstību ietekmē daudzi faktori, tādi kā IKP, valsts budžeta daļa, kas veltīta medicīnas aprūpei, veselības budžets *per capita*, procents no iekšzemes kopprodukta veselības budžetā, nabadzīgo un turīgo iedzīvotāju kvintiļu attiecības, ko raksturo Džini koeficients. Taču zīdaiņu mirstība ir atkarīga arī no ārstu un cita medicīnas personāla skaita valstī, kā arī reālās pieejamības medicīnas

pakalpojumiem, no apkārtējās vides tīrības. Ļoti nozīmīgs ir dzeramā ūdens un gaisa piesārņojuma rādītājs, kas raksturo zīdaiņa ēdināšanu ar mātes pienu, grūtnieču aprūpes rādītāji, kā arī mātes izglītības līmenis un iespējama kaitīgo vielu lietošana ģimenē. Analizējot sīkāk antenatālo aprūpi 2006. gadā, redzams, ka nedzīvi dzimušo struktūrā pilnvērtīga antenatālā aprūpe bijusi tikai 64,3 % no nedzīvi dzimušiem bērniem, un nav bijusi vispār 15,6 % gadījumu. Tomēr dzīvi dzimušajiem 92,2 % gadījumu ir bijusi pilnvērtīga antenatālā aprūpe, bet vispār tā nav bijusi tikai 2,2 % gadījumu (27, 28). Cenšoties izprast, kāpēc pieaudzis nedzīvi dzimušo un ar attīstības anomālijām dzimušo bērnu skaits, jaundzimušo skaits ar zemu svaru un palielinājusies perinatālā mirstība, analizējām šādus rādītājus: grūtnieču stāšanās uzskaitē un ultrasonogrāfiska izmeklēšana līdz 22. grūtniecības nedēļai; smēķējošo dzemdētāju īpatsvars, priekšlaicīgas dzemdības, perinatālā mirstība, mirstība atkarībā no reģiona sociālajiem rādītājiem, mirstība atkarībā no ārstu apmeklējumu skaita. Esam aplūkojoši arī zīdaiņu un bērnu līdz piecu gadu vecumam mirstības iespējamo saistību ar ekonomiskajiem rādītājiem Latvijā citu valstu kontekstā. Attiecībā uz zīdaiņu pēkšņās nāves sindroma izplatības pieaugumu pēdējos gados, jāatzīmē, ka vairumā nāves gadījumu mirušo zīdaiņu mātes vai ģimenes locekļi ir smēķējuši un kopumā Latvijā smēķējošo dzemdētāju īpatsvars mātēm vecuma grupā no 15 līdz 19 gadiem ir pieaudzis par 2 % (26). Diemžēl Latvijā nav pieejami statistikas dati par mirstības izplatību atkarībā no tautības un sociālā slāņa, tāpēc atšķirībā no citām valstīm par šīm pozīcijām kopumā var spriest pēc atsevišķu Latvijas reģionu raksturojošiem ekonomiskajiem rādītājiem. Augstāka mirstība iezīmējas Latgalē, neraugoties uz to, ka tieši Latgalē valsts statistikas datus uzrādīts augstāks ārstu skaits nekā citos reģionos (24). Latvijā augstākā zīdaiņu mirstība 2005. gadā bija Daugavpils rajonā – 25,1; Balvu rajonā – 22,7; Limbažu rajonā – 16,7; pret vidējo rādītāju Latvijā – 7,6 promiles. Taču šeit jāatzīmē, ka, lai gan procentuāli skaitļi ir uzlabojušies, tomēr absolūti nāves gadījumu skaits 2006. gadā nebija mazinājies – vienkārši šajā gadā bija augstāka dzimstība nekā iepriekšējā gadā (27). Tāpēc bazas rada zīdaiņu mirstības kāpums 2007. gadā līdz gandrīz 9 promilēm, jo arī šajā gadā dzimstība bija pietiekama, lai šis rādītājs procentuāli izskatītos labāks, nekā vērtējot to absolūtos skaitļos. Starp zīdaiņu mirstības rādītājiem un citiem rādītājiem vienos un tajos pašos reģionos iezīmējas zināma sakritība, kuru nepieciešams pētīt dziļāk. Grūtnieču aprūpes rādītāji kā pirmreizējā ultrasonogrāfija līdz 22. grūtniecības nedēļai, kas varētu laikus diagnosticēt dažādas iedzimtas patoloģijas, augļa hipoksiju u. c., vidējais rādītājs valstī ir no 91 % līdz 92 %. Šis rādītājs no vidējā stipri atšķiras Limbažu (59 %), Jēkabpils (69 %), Ludzas (75 %), rajonos un Jelgavā (82 %). Savukārt vidējais apmeklējumu skaits (vidēji Latvijā ir 8,0) uz vienu grūtnieci pie akušiera-ginekologa līdz dzemdībām ir ievērojami zemāks Saldus (2, 9); Limbažu (5, 8), Cēsu (5,8), Balvu (6, 7), Dobeles (4, 9) un vēl dažos rajonos. Interesants fakts, ka grūtniecības pārtraukšanas draudi ir augstāki par 18,8 vidējo rādītāju atkal Jelgavā, Aizkraukles, Balvu, Limbažu, Gulbenes, Ludzas, Madonas un Tukuma rajonos (26). Attiecībā uz šo sarakstu būtu jāveic padziļināti pētījumi saistībā ar dzeramā ūdens un gaisa piesārņojumu, kurš vairākos no minētajiem rajoniem un pilsētām ir paaugstināts. Lielākā daļa Latvijas iedzīvotāju māsājniecībā lieto ūdeni, kas neatbilst dzeramā ūdens kvalitātes prasībām, un ūdeni, kuru lieto individuālie patērētāji, ir būtiski lielāks piesārņojums nekā centralizētajā apgādē (14). Tāpat būtu

nepieciešami detalizēti zīdaiņu mirstības un bērnu saslimstības pētījumi saistībā tām vietām Latvijā, kur piesārņojuma intensitāte reģionos ievērojami atšķiras – tā, piemēram, Rīgā uzrādītas 142 piesārņotas, bet Kurzemē 442 un Vidzemē pat 600 potenciāli piesārņotās vietas (14). Saistībā ar zīdaiņu mirstības pieaugumu no dažādām iedzīmtām anomālijām būtu patiešām nepieciešams rūpīgs pētījums attiecībā uz visiem minētajiem faktoriem.

Nevalstisko organizāciju pētījumos 39 % bērnu un 50 % pieaugušo aptaujās norāda uz sliktu veselības aprūpes pieejamību, minot par iemeslu līdzekļu trūkumu, lai varētu iegādāties modernus efektīvus medikamentus vai pārtikas piedevas, kā arī lai varētu apmaksāt patiešām kvalificētu mediķu pakalpojumus (3, 8, 9, 10). Gandrīz puse aptaujāto bērnu norādījuši, ka viņiem pietrūkst kvalitatīvu uztura produktu vai arī vispār pietrūkst pārtikas (3, 10). Sen zināms fakts, ka augļa attīstība un jaundzimušā stāvoklis vismaz 65 % gadījumu ir neapmierinoši, ja grūtniece saņem nepilnvērtīgu uzturu. Šāda situācija faktiski ilgst jau kopš neatkarības atjaunošanas, un tā sasaucas ar iepriekš minētajiem sliktajiem bērnu veselības un labklājības rādītājiem pārejas desmitgadē. Tādēļ bērnu mirstības pacēlums 2007. gadā uz augošas inflācijas un strauji lejupslidošas ekonomiskās attīstības fona ir ļoti satraucošs. Jau Veselības statistikas departaments savā 2007. gada “Sabiedrības veselības analīzē” mirstības paaugstināšanos skaidro gan ar augošām problēmām veselības aprūpes sistēmā saistībā ar māti un bērnu, gan arī ar indivīdu vispārējo veselības stāvokli (28). Tā neonatālās un kopējās zīdaiņu mirstības pieaugums vidēji 1,2 reizes varētu būt saistīts ar ekonomiskās situācijas pasliktināšanos, laicīgu izmeklējumu neveikšanu, pasliktinātu uzturu, kā arī kaitīgo ieradumu pieaugumu.

Pie faktoriem, kas ietekmē veselību un mirstību, pieder arī iedzīvotāju skaits uz vienu ārstu valstī. Latvijā uz simts tūkstošiem iedzīvotāju no 2001. līdz 2006. gadam ir zemākais ārstu skaits salīdzinājumā ar atsevišķām ES dalībvalstīm, izņemot Ungāriju. Latvijā ir zemākais māsu skaits uz tūkstoš iedzīvotājiem Baltijas un Skandināvijas valstu vidū (7, 24). Latvijā pēdējos gados ir arī zemākais apmeklējumu skaits pie ārsta uz vienu iedzīvotāju.

Viens no visbūtiskākajiem faktoriem bērnu mirstības regulēšanā ir valstu makroekonomikas rādītāji kopumā. Taču nevar strikti apgalvot, ka IKP pieaugums vai veselības budžeta *per capita* palielināšana noteikti samazinās bērnu mirstību līdz 5 gadu vecumam. Šādi salīdzinājumi palīdz izgaismot attiecību starp ekonomiskiem panākumiem un sabiedrības attīstību. (22)

1. tabula

Progresā tabula
Table of progress

Valsts	MZ5			Gada samazinājums (%)		Samazinājums kopš 1990 (%)	IKP <i>per capita</i> vidējais gada pieaugums (%)		Zīdaiņu mirstība			Mājsaimniecību ienākumu sadale, % 1995–2004*		
	p.k.	1970	1990	2006	1970–1990		1990–2006	1970–1990	1990–2006	1990	2006	2008 (ap.)*	zemākie 40 %	augstākie 20 %
Latvija	148	26	18	9	1,8	4,3	50	3	4,2	14	8	8,96	18	45
Lietuva	151	28	13	8	3,8	3	38	N/P	2,5	10	7	6,57	18	43
Igaunija	157	26	16	7	2,4	5,2	56	1,5x	4,9	12	5	7,45	18	43
Slovēnija	175	29	10	4	5,3	5,7	60	N/P	3,3	8	3	4,30	23	36
Zviedrija	189	15	7	3	3,8	5,3	57	2	2,2	6	3	2,75	23	37
Vācija	175	26	9	4	5,3	5,1	56	2,2x	1,4	7	4	4,03	22	37
ASV	151	26	12	8	3,9	2,5	33	2	2,1	10	6	6,30	16	46
Krievija	125	40	27	16	2	3,3	41	N/P	0,6	23	14	10,81	17	47
Gruzija	86	N/P	46	32	N/P	2,3	30	3	1	39	28	16,78	16	46
Šrilanka	135	100	32	13	5,7	5,6	59	3	3,8	26	11	19,01	17	48
Dānija	167	19	9	5	3,7	3,7	44	2	1,9	7	4	4,40	23	36
Botsvana	29	142	58	124	4,5	-4,7	-114	8	4,8	45	90	44,01	7x	70x
Libāna	89	54	37	30	1,9	1,3	19	N/P	2,5	32	26	22,59	N/P	N/P
Svazilanda	16	196	110	164	2,9	-2,5	-49	2	0,4	78	112	69,59	13	56
Sjerraleone	1	368	290	270	1,2	0,4	7	0	-0,8	169	159	156,48	3x	63x
CAE/NVS		91	53	27	2,7	4,2	49	N/P	1,1	43	24		20	42
Industr. att. valstis		27	10	6	5,0	3,2	40	2	1,9	9	5		21	40
Pasaulē		145	93	72	2,2	1,6	23	2	2,3	64	49		20	42

Tabula sastādīta no datiem: The State of the World's Children 2008 (UNICEF); *CIA World Factbook 2008

Table composed using data of The State of the World's Children 2008 (UNICEF), *CIA World Factbook 2008

Progresā tabulā atspoguļotie rādītāji ļauj izvērtēt BML5, kā arī zīdaiņu mirstības samazinājumu vairākos periodos saistībā ar IKP *per capita* pieaugumu un mājsaimniecību ienākumu sadali. Šajā tabulā redzams, ka Baltijas valstu kontekstā BML5 ir vislētāk samazinājusies Latvijā, pie tam līdzīgs kritums ir novērots ASV, lai gan minētajā laika posmā IKP *per capita* vidējais gada pieaugums Latvijā ir bijis pusotru līdz divas reizes augstāks nekā ASV. Zīdaiņu mirstība Latvijā ir kritusies straujāk, un Latvijā ir arī bijis augstāks vidējais IKP *per capita* gada pieaugums nekā Lietuvā, taču zemāks nekā Igaunijā. Mirstības izmaiņas nav atbildušas IKP

per capita svārstībām šajās valstīs. Kopumā tabula rāda milzīgo progresu, kāds ir noticis valstīs bērnu mirstības samazināšanā, taču ir arī redzams, ka samazinājums ne katrreiz atbilst IKP *per capita* pieaugumam. Latvijas IKP uz vienu iedzīvotāju pēc pirktspējas paritātes 2007. gadā bija tikai 58 % apmērā no visu 27 ES valstu vidējā līmeņa, kas ir ceturtais zemākais rādītājs ES. Vēl zemāks IKP *per capita* bijis Bulgārijā, Rumānijā un Polijā. Savukārt Lietuvā IKP pārspēj Latviju par 2 % bet Igaunijā par 14 % (4). Īrijā ES vidējais rādītājs pārsniegts par 46 %, Zviedrijā par 26 %. Savukārt visu minēto valstu starpā 2007. gadā Latvijā bija visaugstākā inflācija, sasniedzot 18,5 %. Minētie rādītāji lielā mērā varētu izskaidrot ārsta apmeklējumu skaita samazināšanos, novēlotu ultrasonogrāfisku izmeklēšanos, mazāk pilnvērtīga uztura ietekmi uz grūtniecību, tādējādi izraisot mirstības pieaugumu iepriekšminētajās zīdaiņu grupās.

2. tabula

Bērnu mirstība, IKP, veselības budžets, ienākumu sadale valstu salīdzinājumā
Child mortality, GDP, health budget, income distribution by country

Valsts	Rādītāji					
	Zīdaiņu mirstība	BML5	<i>Per capita</i> IKP (\$)	Kopējais veselības budžets <i>per capita</i> (\$)	% no IKP veselības budžetā	Džini koef.*
Latvija	9	9	15,350	860	6.40 %	37.7
Lietuva	7	9	14,930	862	5.90 %	36
Igaunija	6	6	17,540	846	5 %	35.8
Slovēnija	4.3	3	23,970	4724	8.50 %	28.4
Zviedrija	2.75	3	35,070	3012	9.20 %	25
Vācija	4.03	4	31,830	3250	10.70 %	28.3
ASV	6.3	6	44,260	6350	15.20 %	40.8
Krievija	14	18	11,630	561	5.20 %	39.9
Gruzija	41	45	3,690	318	8.60 %	40.4
Šrilanka	19.01	12	5,010	189	4.10 %	40.2
Dānija	4	5	36,460	3,064	9.10 %	24.7
Botsvana	87	120	12,250	726	8.30 %	60.5
Libāna	27	30	5,460	584	8.70 %	N/P
Svazilenda	110	160	5,170	360	6.30 %	50.4
Sjerraleone	165	282	850	41	3.70 %	62.9

Tabula sastādīta no datiem: The State of the Worlds Children 2007 (UNICEF); World Health Organization Countries 2005; *Human Development Report 2007/2008

Table composed using data of The State of the Worlds Children 2007 (UNICEF), World Health Organization Countries 2005, *Human Development Report 2007/2008

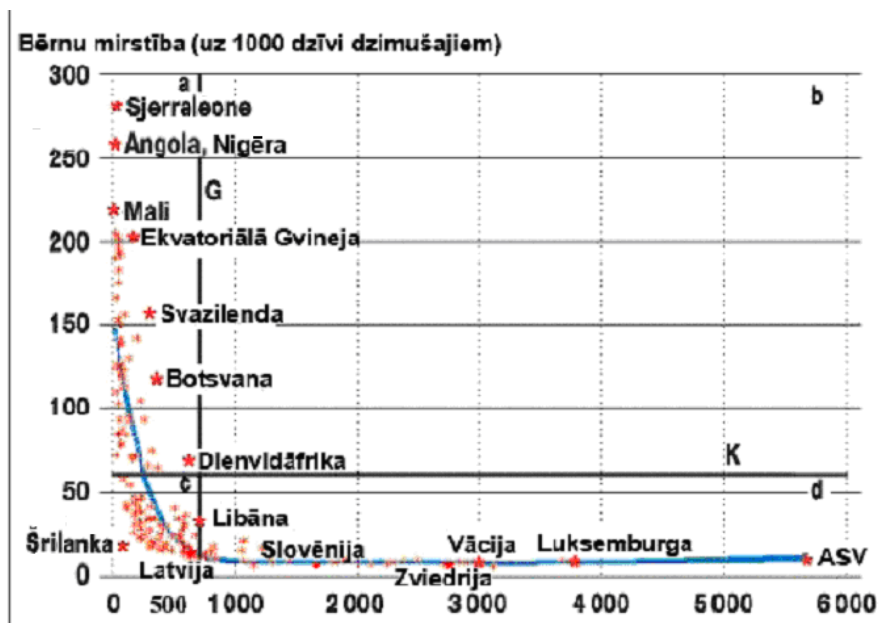
2. tabulā atspoguļotie rādītāji kompilēti no vairākiem pasaules statistikas izdevumiem, nolūkā mēģināt detalizētāk izprast zīdaiņu mirstības un BML5 atšķirības dažādās valstīs atkarībā no atšķirībām IKP *per capita*, kopējā veselības budžetā *per capita*, procentuālā ieguldījuma no IKP veselības budžetā un Džini

koeficienta. Redzams, ka ZM un BML5 rādītāji Igaunijā un ASV ir līdzīgi, taču IKP *per capita* ASV ir divarpus reizes augstāks. Kopējais veselības budžets *per capita* ASV ir septiņarpus reizes augstāks, bet procentuālais ieguldījums no IKP veselības budžetā ir aptuveni trīs reizes augstāks nekā Igaunijā. Tomēr Džini koeficients, kurš raksturo sociālā taisnīguma līmeni IKP sadalē, ir samērā tuvs abās valstīs – ASV tas ir 40,8, bet Igaunijā – 35,8. Zviedrijā un Dānijā līdzekļi tiek sociāli sadalīti daudz taisnīgāk, pie tam šis sociālais taisnīgums, ļauj noturēt ievērojami zemāku mirstības līmeni nekā ASV, kurai ir par aptuveni desmit tūkstošiem dolāru augstāks *per capita* IKP, kā arī ievērojami augstāks kopējais veselības budžets *per capita* un atskaitījumi veselības budžetā no IKP nekā tas ir Zviedrijā un Dānijā. Tātad jaundzimuša bērna iespēja sasniegt savu piecu gadu dzimšanas dienu Dānijā un Zviedrijā ir ievērojami augstāka pie daudz zemākiem valsts ienākumiem, nekā tas ir Amerikas Savienotajās Valstīs, kur ir daudz izteiktāka trūcīgo un bagāto iedzīvotāju noslāpošanās. Salīdzinot ar bērnu zemās mirstības ziņā progresīvajām Skandināvijas valstīm, Latvijā, Lietuvā un Igaunijā ir daudz augstāks Džini koeficients un līdz ar to sociāli netaisnīgāka ienākumu sadale. **NB!** Latvijā 2004. gadā esošā ienākumu analīze kvintīļu grupās liecina, ka 60 % (1.–3. kvintīle) trūcīgāko mājāsaimniecību rīcībā bija tikai 35 % no ienākumu naudas summas visās mājāsaimniecībās, taču tajās dzīvoja 61 % no mājāsaimniecībās dzīvojušo personu kopskaita, turklāt vairāk nekā divas trešdaļas no bērnu kopējā skaita (ap 80 %). Džini koeficients Latvijā ir trešais augstākais ES-25 dalībvalstīs (tuvu 40 pret ES vidējo – 29). Jāatzīmē, ka lielās inflācijas apstākļos veselībai paredzētais budžets Latvijā relatīvi pēc pirktspējas ir ievērojami sarucis. Inflācija 2005. un 2006. gadā Latvijā bija trīs reizes augstāka par ES vidējo (22), pusotru reizi augstāka nekā Igaunijā un 1,7 reizes augstāka nekā Lietuvā. Taču 2007.–2008. gadā inflācija Latvijā kļuva visaugstākā ES-25, sasniedzot 18,5 %, un to nelielais budžeta palielinājums veselībai nespēja kompensēt. Iepriekšējā desmitgadē Latvijā bija zemākais veselībai paredzētā budžeta pieaugums salīdzinājumā ar Lietuvu un Igauniju, bet 2002.–2005. gadā Latvija veselības budžetā ieskaitīja lielāku procentu (līdz 6) no IKP, kurš diemžēl 2006. gadā jau atkal noslīdēja atpakaļ uz 4 %. Diemžēl ne tikai inflācija, bet arī no Igaunijas un Lietuvas atšķirīgā veselības aprūpes pieejamība, aizvien vairāk pazemina grūtnieču un bērnu iespējas saņemt augsti kvalificētu aprūpi Latvijā (5, 28).

Bērnu vecumā līdz pieciem gadiem mirstības rādītājs ir atkarīgs ne tikai no medicīnai paredzētā budžeta, bet arī no valsts ģeogrāfiskās atrašanās vietas un epidemioloģiskā stāvokļa.

Vācu profesora O. Razuma līknē (19) šī raksta autori iekompilēja Latviju un Slovēniju, ar pārsteigumu atklājot, ka Latvija atrodas vienā kvadrantā ar Šrilanku un ļoti daudzām citām – pavisam tālām Āfrikas valstīm (3. att.). Turpretī Botsvana un Svazilenda, pie ievērojami augstāka *per capita* veselībai nekā Šrilankā uzrāda desmit līdz četrpadsmit reizes lielāku mirstību bērniem līdz pieciem gadiem. Šo nesakrītību profesors Razums skaidro ar lielo AIDS izplatību Botsvanā un Svazilendā. Savukārt šī raksta autori salīdzinoši zemo BML5 Šrilankā skaidro vēl arī ar augstāku sabiedrības izglītotību, pateicoties UNICEF aktivitātēm. 3. attēlā redzams, ka Latvija ar savu tā laika BML5 rādītāju 11 un ar veselības finansējumu 680 ASV dolāru uz vienu cilvēku atrodas vienā kvadrantā ar Šrilanku, kurā mirstība ir 14 un kurai veselības finansējums tolaik ir četrreiz mazāks nekā Latvijai. Šajā pašā attēlā mēs redzam,

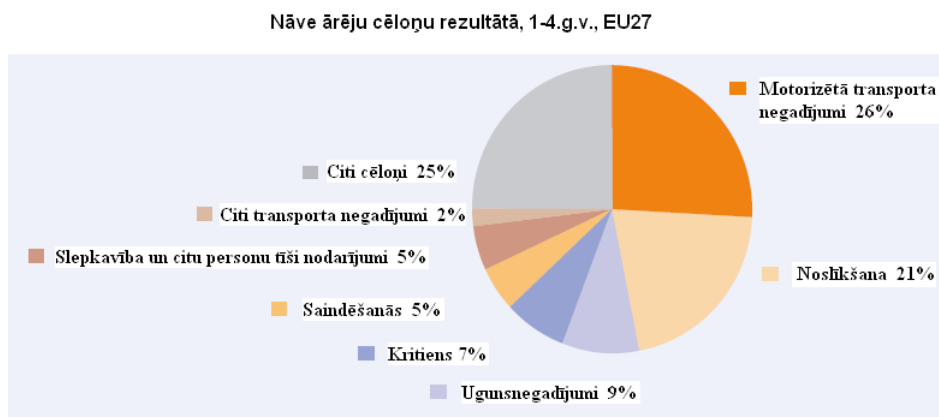
ka Slovēnija, viena no valstīm, kas iestājās ES līdz ar Latviju, BML5 ir tikai 3 pie veselības budžeta *per capita* 2006. gadā – jau 4700 ASV dolāri. Tabulas kvadrantos mēs redzam, ka Amerikas Savienotajās Valstīs ar ievērojami lielāku ieguldījumu veselības budžetā tomēr ir ievērojami augstāka BML5.



3. attēls. Kopējie *per-capita* izdevumi veselībai (2003) un bērnu mirstība (2004). Attēls sastādīts, kombinējot datu prezentāciju no Prof. O. Razuma, ievietojot Latvijas un Slovēnijas datus. Datu avots: World Health Statistics 2006 (WHO)

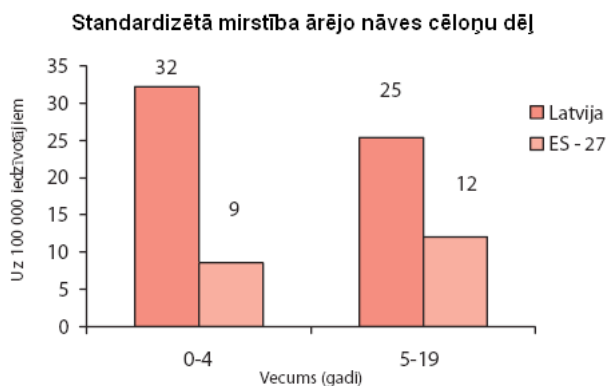
Figure 3. Total *per-capita* health expenditure (2003) and child mortality (2004). Graph composed using data presentation of Prof. O. Razums, data of Latvia and Slovenia. Data source: World Health Statistics 2006 (WHO)

Visā Eiropā par galveno nāves iemeslu tiek uzskatīts bērnu traumatisms, bet bērni un jaunieši Latvijā ārējo cēloņu dēļ mirst ievērojami vairāk nekā vidēji Eiropas Savienībā – 4 reizes vairāk mirst 0–5 gadus veci bērni, bet divreiz vairāk 5–19 gadus veci bērni. Mirstības attiecība laukos un pilsētā ir 2 pret 1. Ārējo nāves cēloņu īpatsvars mirstības struktūrā bērniem Latvijā ir vislielākais ES-25 valstu vidū (1–4 gadu veciem bērniem – 48,6 %, pret 18 % Itālijā; 5–14. gadu vecuma grupā tie ir 59,7 % pret 26 % Lielbritānijā) (29). Eiropas traumatisma datubāze rāda, ka Latvijā vairāk nekā vidēji ES bērnu mirst – transporta negadījumos divreiz; no tīša kaitējuma trīsreiz; saindēšanās trīsreiz; uguns un dūmiem deviņreiz(!); vides faktoru ietekmes dēļ piecreiz; noslīkšanas desmitreiz (!) vairāk. Bērnu traumatismā ir liels apdegumu īpatsvars – 84 % no visiem apdegumiem iegūst, applaucējoties ar karstiem šķidrumiem. No tiem 72 % ir bērni līdz 2 gadu vecumam. PVO norāda, ka 75 % bērnu traumatisma gadījumu ir novēršami, jo ir vecāku neuzmanības sekas (11). Tas jāpanāk, pievēršot vairāk uzmanības vecāku izglītībai un preventīviem pasākumiem, arī ieviešot valstisku bērnu traumatisma novēršanas programmu.



4. attēls. Nāve ārēju cēloņu rezultātā, 1–4 g. v., ES-27. Dati no WHO Mortality Database, datu prezentācija no Kuratorium für Verkehrssicherheit (KfV), 2007. Attēls tulkots latviski

Figure 4. Death by external causes, age 1–4, EU-27. Data source: WHO Mortality Database, data presentation from Kuratorium für Verkehrssicherheit (KfV), 2007. Translated to Latvian



5. attēls. Standartizētā mirstība ārējo nāves cēloņu dēļ. Dati no PVO: Health for All 2005. Datu prezentācija no SVA 2007. gada pētījuma (11)

Figure 5. Standardized mortality by external causes. Data of PVO: Health for All 2005. Data presentation from PHA 2007 research (11)

Diskusija

Pasaulē kopumā joprojām vēl pastāv lielas iespējas samazināt bērnu nāves gadījumu skaitu 0–5 gadu vecuma grupā, un tās ir atšķirīgas reģionos, taču daļa no tām sakrīt. Latvijai, kuras rādītāji bērnu mirstības ziņā ir sliktākie Baltijā un ES-25, vēl ir rezerves, kā mazināt bērnu mirstību, gan ar tām metodēm, kuras ir aktuālas trešās pasaules valstīs, gan arī ieviešot veiksmīgāku valstu pieredzi. MDG mērķi – samazināt bērnu mirstību par divām trešdaļām – attīstības valstīs ir iespējams

sasniegt, ja G8 valstis nodrošinās solīto finansējumu. Savukārt Latvijā MDG ceturrtā mērķa sasniegšanai ir nepieciešami vairāki priekšnoteikumi, kuri konkretizējas mūsu pētījuma gaitā, un tie ir lielā mērā atkarīgi no politiskās gribas valstī, kā arī no ekonomiskās krīzes attīstības gaitas reģionā.

Lai gan nāves izplatība 0–5 gadus vecu bērnu vidū Latvijā ir 30 reizes zemāka nekā Sjerraleonē, tomēr bažas rada fakts, ka Latvijas bērnam joprojām ir trīs reizes mazākas iespējas nodzīvot līdz savai piektajai dzimšanas dienai nekā zviedru bērniem un arī ievērojami mazākas nekā igauņu un lietuviešu bērniem. 2. attēlā redzami dati par zīdaiņu mirstības negatīvajām tendencēm Latvijā pēdējo gadu laikā atšķirībā no pārējām Baltijas valstīm. Te gan jāatzīmē, ka arī Igaunijā 2007. gadā ir vērojams zīdaiņu mirstības pieaugums, taču tas nav tik liels kā Latvijā, bez tam gadu agrāk, 2006. gadā tas ir bijis par 3,2 promilēm zemāks (!) nekā Latvijā.

BML5 mirstībai ir multifaktoriālas kopsakarības ar valstī un reģionā notiekošajiem ekonomiskajiem, politiskajiem un apkārtējās vides procesiem, izglītības līmeni un daudz ko citu. Analizējot literatūru, rodas pārliecība par tomēr, cita starpā, izšķirošo mehānismu – stabila bērnu mirstības samazināšana arī Latvijā nav panākama bez samērīguma principu ievērošanas un attīstīšanas valsts ienākumu sadalē.

Pieejamās datubāzes parāda, ka IKP un kopējais veselības budžets *per se* nav izšķiroši attiecībā uz mirstības rādītājiem un veselības aprūpi, bet tos ievērojami ietekmē sadales jautājums, kuru raksturo Džini koeficients. Jo lielāks ir atšķirības starp iedzīvotāju ienākumu kvintilēm, jo augstāka bieži ir mirstība valstī, pat tajos gadījumos, kad kopējais valsts veselības budžets ir daudz augstāks. To uzskatāmi apliecina ASV un Skandināvijas, un Baltijas valstu piemēri (detalizēts apraksts pie 2. tabulas). Pastāv milzīgas valstu atšķirības IKP *per capita* un veselības budžets (VB) *per capita* aspektā – tā starp Āfrikas valstīm un ASV šī atšķirība ir desmitiem reižu, taču veselības budžeta palielināšana, ne vienmēr automātiski pazemina bērnu mirstību. Valstī ar mazāku veselības budžetu var būt zemāka mirstība, bet valstī, kurai šis budžets ir ievērojami lielāks, mirstība var būt vairākas reizes augstāka (3. attēls). IKP *per capita* neatspoguļo vienlīdzīgi visu iedzīvotāju slāņu veselības aprūpes stāvokli. Jo lielāka atšķirība starp dažādu sociālo slāņu kvintilēm, jo mazāk IKP *per capita* atspoguļo katra konkrētā iedzīvotāja pieejamību medicīnas pakalpojumiem. Jau ticamāk to atspoguļo VB *per capita*, taču ne viennozīmīgi (22, 30). Bagāto ASV un trūcīgo Latviju vieno augsti Džini koeficienti un augstāka mirstība pretstatā turīgajai Skandināvijai ar gandrīz trīsreiz zemāku mirstību, bet arī ievērojami zemāku Džini koeficientu, tātad sociāli taisnīgāku modeli.

Tomēr obligāti ir nepieciešama arī mūsu valsts veselības budžeta palielināšana, jo ne agrākais, ne pašreizējais budžets pēdējo gadu milzīgās inflācijas ietekmē nav samērojams ar ES vidējo pirktspeju (17).

Taču tad vienlaicīgi būtu jānodrošina, lai veselības budžetā paredzētie līdzekļi nonāk līdz konkrēta iedzīvotāja reālai veselības aprūpei. Pētījumā veiktais salīdzinājums ekonomiskā aspektā, ļauj secināt, ka pie samērā līdzīgās sociāli ekonomiskās situācijas, kāda bija trijās Baltijas valstīs pēc neatkarības atgūšanas, viens no izšķirošajiem faktoriem stabili augstākajos Latvijas bērnu mirstības rādītājos tomēr ir atšķirīgie veselības aprūpes finansējuma principi (uzveļot maksājumus iedzīvotājiem), uz kuriem jau 2001. gadā norādīja FAFO Norvēģijas pētniecības

institūts, bet 2007. gada izdevumā – arī Valsts Statistikas departaments, komentējot mātes un bērna veselības aprūpi Baltijas valstu veselības apdrošināšanas kontekstā (6, 26, 28).

Tādējādi valstij būtu jāveic nopietni sociālās atstumtības mazināšanas pasākumi, kuri varētu kļūt izšķiroši pesimistisku prognožu gadījumā – paredzot krasu bezdarba līmeņa pieaugumu saistībā ar paredzamo ekonomisko krīzi. Jau minējām, ka starp bezdarba rādītājiem un mirstības rādītājiem pastāv augsta korelācija ($r = 0,78$) (21).

Taču arī pašreizējā budžeta ietvaros iespējams veikt vairākus pasākumus BML5 samazināšanai – mazinot zīdaiņu pēkšņās nāves sindroma izplatību, ES-25 kontekstā milzīgo nāves gadījumu skaitu no ārējiem cēloņiem un uzlabojot grūtnieču agrīnās diagnostikas rādītāju ar plašu valsts mēroga kampaņu palīdzību, kā arī uzdotot mediķiem un skolotājiem attiecīgi informēt un izglītēt bērnus un ģimenes.

Tā, saskaņā ar ASV Pediatru asociācijas datiem, ASV dažu gadu laikā ir izdevies samazināt zīdaiņu pēkšņās nāves sindroma izplatību par 50 % (kamēr Latvijā tas ir gandrīz uz pusi pieaudzis). Tas tika panākts, visas valsts ietvaros izvēršot plašu kampaņu – *Back to sleep Campaign*. Zīdaiņu un BML5 mirstības samazināšanā neizmantotas rezerves pastāv arī, veicinot krūts barošanu un mazinot smēķēšanu ģimenēs un mājokļos, kas joprojām daudz labāk tiek risināts valstīs ar zemāku mirstību. Kampaņu rīkošana būtu jāuzņemas Veselības ministrijai un Sabiedrības Veselības aģentūrai, kopā ar Latvijas Pediatru asociāciju.

Finansiāli sarežģītāka sfēra ir vides un dzeramā ūdens piesārņojuma ietekme uz augļa veselību. Šajā sfērā bērnu mirstības samazināšanai būtu nepieciešami padziļināti pētījumi, meklējot korelāciju starp iedzimto anomāliju gadījumiem un Latvijas kartē iezīmētajiem ūdens kvalitātes un vides piesārņojuma rādītājiem. 2006. gadā Latvijā 37 % dzeramā ūdens avotu valstī vēl neatbilda standartiem ķīmiskā sastāva ziņā (31). Nepieciešams arī uzsākt pētījumus, lai konstatētu vides piesārņojuma saistību ar iedzimtām anomālijām un agrīniem nāves gadījumiem, kas saistīti ar respiratorām problēmām, jo starptautisko pētījumu dati norāda uz pēdējos gados ievērojamu minēto vides faktoru ietekmi uz bērnu mirstības rādītājiem tieši attīstītajās valstīs, kurās tiek daudz plašāk lietoti dažādi sadzīves ķīmijas produkti, bet savukārt Latvijā pieaug piesārņoto un potenciāli bīstamo vietu skaits (14, 29).

Latvijā valsts līmenī netiek pietiekami mērķtiecīgi strādāts, lai neatliekami mazinātu bērnu mirstību tajās cēloņgrupās, kurās tas ir reāli iespējams un ko atbildīgās institūcijas sen varēja identificēt, ja vien būtu regulāri veikušas pieejamo datu cēloņsakarību analīzi starptautiskā kontekstā. Situācijas uzlabošanu traucē arī fakts, ka valsts statistikas dati par mirstības struktūru, pieejamību ārstiem, veselības budžetu *per capita* un citiem nav pieejami plašai sabiedrībai, lai tā varētu likumā noteiktajā kārtībā piedalīties problēmas risināšanā, sniedzot priekšlikumus un veicot projektus, cita starpā, piesaistot ārvalstu finansējumu.

Secinājumi

1. Bērnu līdz piecu gadu vecumam mirstības rādītāju ziņā Latvija sava industriālo valstu reģiona ietvaros ieņem marginālu pozīciju, pietuvojoties šajā parametrā, no vienas puses, atsevišķām attīstības valstīm Āfrikā ar relatīvi augstu izglītības līmeni un Latvijai tuvu Džini koeficientu, bet, no

otras puses, – ASV ar nesalīdzināmi lielāku budžetu veselībai, taču ar tuvu sociālo noslāņošanos un līdzīgu Džini koeficientu.

1. BML5 un zīdaiņu mirstības mazināšanā Latvijā ir ievērojamas plaša spektra iespēju rezerves, sākot no finansiāli mazietilpīgām, piemēram, efektīva esošo resursu izmantošana, iesaistīšanās struktūrfondu un starptautisku projektu apgūšanā.
2. Latvijas valsts kopš neatkarības atjaunošanas nav izmantojusi visas tās iespējas, lai samazinātu BML5 un zīdaiņu mirstību, kuras ir izmantojušas daudzas citas AE/CE un pārējās Baltijas valstis ar līdzīgu sociāli ekonomisko situāciju pēc izraušanās no PSRS ietekmes zonas. Latvijā ģimenēm ar bērniem nav bijusi nodrošināta samērojama pieejamība veselības aprūpei salīdzinājumā ar abām pārējām Baltijas kaimiņvalstīm ar sociāli taisnīgāku finansējuma sistēmu medicīnai.
3. Lai mēģinātu paspēt izpildīt MDG mērķus – līdz 2015. gadam par 2/3 samazināt zīdaiņu un BML5 mirstību –, ir nepieciešami neatliekami valsts mēroga preventīvi un pētnieciski pasākumi attiecībā uz galvenajām augstās mirstības cēloņgrupām – ZPNS, nāve ārēju cēloņu rezultātā, mirstība no iedzimtām anomālijām, postneonatālā mirstība saistībā ar respiratorām problēmām.
4. Mirstības cēloņu analīzei valsts statistikas un veselības stratēģijas plānošanas iestādēs, kā arī medicīnas zinātnes iestādēs turpmāk jātiek veiktai daudz plašākā apjomā – veicot to starptautiskā kontekstā, kā arī padziļinot veselību un mirstību iespējami ietekmējošo faktoru izpēti (kombinēta multifaktoriāla mirstības analīze atkarībā no medicīnas aprūpes pieejamības, piederības sociālajam slānim, vecāku izglītības, dzīvesvietas saistībā ar dzeramā ūdens, augsnes un gaisa piesārņojumu, kaitīgiem ieradumiem ģimenē u. c. valstu kontekstā).

Pateicības

Pētījums veikts Valsts pētījumu programmas “Latvijas iedzīvotāju dzīvildzi un dzīves kvalitāti apdraudošo galveno patoloģiju zinātniska izpēte ar multidisciplināru pētnieciskā konsorcijs palīdzību” 5. projekta “Bērnu mirstību un invaliditāti ietekmējošo slimību mūsdienīgu agrīnās diagnostikas, profilakses un terapijas pasākumu izstrāde” ietvaros.

Pateicamies par sadarbību Veselības statistikas departamenta darbiniekiem, un īpaši VSMTVA direktora vietniecei *Dr. med. Jautrītei Karaškēvicai*.

Literatūra

1. Central Intelligence Agency. 28 July 2005. CIA. 27 Aug. 2008. <https://www.cia.gov/>
2. Central Intelligence Agency. GDP. 28 July 2005. CIA World Factbook. 27 Aug. 2008. <https://www.cia.gov/>
3. Eurochild. Ending Child Poverty within the EU? A review of the 2006–2008 national reports on strategies for social protection and social inclusion. Brussels, 2007, 3, 59.

4. EUROPA – Eurostat. 14 Aug. 2008. http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page?_pageid=1090,30070682,1090_33076576&_dad=portal&_schema=portal
5. Fafo – Report. Better or worse? Living conditions, developments in Estonia, Latvia and Lithuania, 1994–1999. Norway, 2000. 32 p.
1. Fafo – Institute for Applied Social Sciences (Norway). The survey of living conditions in Latvia in 1999. Rīga, 2000, 118, 124.
2. Katz M., Rubino A., Collier J., Rosen J., Ehrlich J. H. Demography of Pediatric Primary Care in Europe: Delivery Care and Training. May 2002. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11986438>.
3. Latvijas Organizācija “Glābiet bērnus”. Alternatīvais ziņojums Apvienoto Nāciju Organizācijai par Bērnu tiesību aizsardzības stāvokli Latvijā 1992–1997. Rīga, 1998.
4. Latvijas organizācija “Glābiet bērnus”. Neatkarīgais Bērnu ombuds. Alternatīvais ziņojums Apvienoto Nāciju Organizācijai par bērnu tiesību aizsardzības stāvokli Latvijā 1998.–2002. Rīga, 2002.
5. Latvijas organizācija “Glābiet bērnus”. Latvijas Bērnu ziņojums Apvienoto Nāciju Organizācijai “Par ANO Konvencijas par bērna tiesībām izpildi valstī”. Rīga, 2006.
6. Latvijas Sabiedrības veselības aģentūra. Sabiedrības veselības stratēģijas mērķu monitorings: Traumatisms un ārējie nāves cēloņi bērniem un jauniešiem. Rīga, 2007, 11–14.
7. Latvijas Republikas Centrālā statistikas pārvalde. Bērni Latvijā 2006. Rīga, 2007, 12–16.
8. Latvijas Republikas Centrālā statistikas pārvalde. Dzīves apstākļu apsekojums Latvijā 1999. gadā. Rīga, 2000, 118, 124.
9. Latvijas Vides, ģeoloģijas un meteoroloģijas aģentūra. Ilgtspējīgas attīstības indikatoru pārskats 2006. 12 Aug. 2008, 1–6. http://www.lvgamma.gov.lv/produkti/liaip2006/labklajiba/veselibas_riska_faktori.htm
10. LR Tiesībsarga birojs. Gada ziņojums 2007. Rīga, 2008, 34.
11. LR Veselības ministrija. Mātes un bērna veselības aprūpes stratēģija 2002–2007, VM, Rīga, 2003, 2–8.
12. LU Sociālo un politisko pētījumu institūts. Pārskats par tautas attīstību 2006/2007. Rīga, 2007, 99, 103, 106, 111.
13. Nation Master. World Statistics, Country Comparison: Infant Mortality Rate by Country. Nation Master. Aug.–Sept. 2008. <http://www.nationmaster.com/index.php>
14. Razum O., Breckenkamp J. Mortality in Children under 5 Years and Social Situation: International Comparison. Dtsch Arztebl 2007, 104(43), 4,5,7: A 2950–6. <http://www.aerzteblatt.de>
15. UNICEF. A Decade of Transition: The MONEE Proect CEE/CIS/Baltics. Regional Monitoring Report, No. 8. Florence, 2001, UNICEF Innocenti Research Centre, 32, 129.
16. UNICEF. Innocenti Social Monitor 2004. Florence, 2004, UNICEF Innocenti Research Centre, 22.
17. UNICEF. State of the Worlds Children 2007. Aug 21 2008. <http://www.unicef.org/sowc07/docs/sowc07.pdf>
18. UNICEF. Unite for Children: Facts on Children. May 2008, 1.
19. VSD. Latvijas iedzīvotāju veselības un veselības aprūpes pārskats 2007. Rīga, 2008, 19, 20, 59–62, 71, 72–76, 87, 92.
20. VSD. Latvijas veselības aprūpes statistikas gadagrāmata 2006. Rīga, 2007.
21. VSD. Mātes un bērna veselības aprūpe 2006. Rīga, 2007, 19, 22, 29–32.

22. VSD. Mirstības medicīniskie aspekti Latvijā 2006. Rīga, 2007, 68–72.
23. VSD. Sabiedrības veselības analīze Latvijā 2006. Rīga, 2007, 22–23, 87, 162, 164, 187.
24. VSD. Latvijas veselības aprūpes statistikas gadagrāmata 2007. Rīga, 2008, 10, 14, 17, 18, 44, 46.
25. World Health Organization, Latvia, 2008. WHO. Aug.–Sept. 2008. <http://www.who.int/countries/lva/en/>
26. World Health Organization. Children's Health and the Environment in Europe: a Baseline Assessment, 2007. Phoenix Design Aid, 2007, 13, 14, 34, 35, 50, 51.
27. WHO European Health for All Database (HFA–DB). [www.euro.who.int/HFA DB](http://www.euro.who.int/HFA_DB).

Summary

The aim of the article is to identify reasons for infant and under five mortality rates in Latvia, which are continuously the highest within EU-25 since the restoration of independency of Latvia, in order to find any solutions on how to diminish it according to the Millennium Development Goals (MDG 4). For that purpose, building on international data, the authors tried to establish causal relationship of under-5 mortality (U5M) in Latvia and such factors as the GDP, health budget per capita, Gini coefficient, availability of medical services, environmental pollution, place, education, etc. The method was analytical study of available national and international statistics, monitoring of reports of the mentioned factors, and private publications. Charts and graphs were created using data of official and non-governmental organizations' sources, combining them (sources are described under each graph). U5M was compared in the world in the aspect of causal relationships, pointing out which experiences of other countries could be implemented in Latvia. Results of the investigation suggest that the reasons of mortality among several target groups are clearly recognizable, and real possibilities to decrease infant and under-5 child mortality are evident. The structure of U5M in Latvia is different than elsewhere in the EU-25: U5M is 2 to 10 times higher because of different external causes of death; incidence of SIDS has increased by 40% since 2006; infant mortality caused by developmental disorders and in-born abnormalities has increased by 40% as well. At the same time, mistakes of the government policy regarding health issues are clearly visible since the regaining of independence. During the decade of transition in the 90s, health budget increased by 0.7% of GDP compared to 1.7 % and 2.4 % increase in Lithuania and Estonia. The correlation coefficient between unemployment and mortality rate was 0.78. Availability of medical services to the population of Latvia decreased extremely compared to neighbouring Baltic countries covered by state health insurance. The result of that was and still is the highest infant and U5M rates within the EU-25 as well as in the Baltic states. There is no efficient state policy providing public campaigns preventing SIDS and advertising the importance of early ultrasound diagnostics in pregnancy as well as breast feeding. Data of NGOs suggest low availability of adequate medical services (inaccessible for 39% of the population). The mentioned facts place Latvia in a marginal position among the European region of industrialized countries – close to Sri Lanka, one of the most progressive Africa's countries, but with a very similar Gini coefficient. Gini coefficient in Latvia is the second highest within the EU-25, whereas the health budget per capita as percentage of GDP is the lowest by purchasing ability, taking into account the highest inflation in the EU – 18.5%. Moreover, by 2006 appr. 37% of public drinking water resources did not correspond to the official demands, the number of polluted places in regions increased; at the same time, no investigations were undertaken to exclude

possible connection between increasing infant mortality as a result of inborn development disorders and environmental pollution. Furthermore, we have identified several reasons for high U5M in Latvia as well as tools to be implemented in Latvia already used by other countries to decrease U5M. Those tools can be classified in 2 parts – low budget events improving work within the existing budget and events possible as a result of political will to provide adequate % of GDP for the health budget, efficient work on social inclusion, enabling access to medical care, overtaking the experience of health insurance in other Baltic states. Last but not least, regular comparative statistical analysis of all factors mentioned above in a wide international context should be provided by the government and researchers in order to avoid earlier mistakes and formulate tasks to perform in order to improve the current rank of the highest mortality of children among the EU-25.

Keywords: *under-5 mortality (U5M), infant mortality (IM), Millennium Development Goals (MDG).*

***S. aureus* un *E. coli* bakterēmijas P. Stradiņa klīniskajā universitātes slimnīcā**

Bloodstream Infections Caused by Staphylococcus aureus and Escherichia coli at Pauls Stradiņš Clinical University Hospital

Agita Melbārde-Kelme^{*}, Elīna Dimiņa^{}, Arta Balode^{***},
Uga Dumpis^{****}**

P. Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca
Pilsõņu 13, Rīga

E-pasts: melbarde_kelmere@stradini.lv^{*}, elina.dimina@stradini.lv^{**},
arta.balode@stradini.lv^{***}, uga.dumpis@stradini.lv^{****}

Pētījuma mērķis: analizēt bakterēmiju epidemioloģisko situāciju slimnīcā un identificēt riska faktorus, lai izveidotu efektīvas vadlīnijas šo infekciju profilaksei.

Pētījuma vieta: Paula Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca, Rīga, Latvija.

Metodika. Apkopoti dati par no asinīm izdalīto patogēnu cirkulāciju slimnīcā 2004., 2005. un 2006. gadā. Lai izvērtētu bakterēmiju riska faktorus, veikts prospektīvs gadījumu kontroles pētījums. Pētījuma ilgums – viens gads (01.06.2007.–30.06.2008.). Gadījumu grupu veido pacienti, kuriem bija laboratoriski apstiprinātas *S. aureus* vai *E. coli* bakterēmijas, kontroles grupu veido pacienti, kuriem nebija bakterēmijas. Pētījuma laikā analizēta informācija par bakterēmiju riska faktoriem un to izplatību nodaļās un ietekme uz hospitalizācijas ilgumu, kā arī mirstības risku.

Rezultāti. Stafilokoki ir biežākie grampozitīvie patogēni, kuri izdalīti pacientu asins paraugos (*S. aureus* ir klīniski nozīmīgākais). Biežākais gramnegatīvais no asinīm izdalītais patogēns ir *E. coli*. Nozīmīgākais riska faktors pētījumā ir katetru lietošana pacientiem (gan centrālo, gan perifēro vaskulāro katetru lietošana, kā arī urīnkatetru lietošana). Bakterēmijas samazināšanas pasākumos jāietver katetru lietošanas vadlīniju izstrāde un ieviešana klīniskajā praksē, asins paraugu ņemšanas procedūru kontrole, kā arī dažādi infekciju kontroles pasākumi.

Atslēgvārdi: bakterēmijas, infekciju kontrole, nozokomiālas infekcijas, asinsvadu katetri, sepse, bakterēmiju patogēni

Nozokomiālas infekcijas ir nozīmīgs saslimstības un mirstības iemesls. Tās ir saistītas ar ievērojamu izdevumu pieaugumu veselības aprūpes sistēmai. Biežākie nozokomiālo infekciju veidi ir pneimoniya, ķirurģiskas brūces infekcija, urīnceļu infekcija un primārās un sekundārās bakterēmijas. No šīm infekcijām nozokomiālas bakterēmijas gadījumi tiek novēroti visretāk (apmēram 5%), tomēr to rezultātā ir visaugstākā pacientu mirstība. Pēc literatūras datiem, mirstība no nozokomiālas bakterēmijas variē no 22 līdz 50 %.⁷ ASV veikti pētījumi liecina, ka nozokomiālās asinsrites infekcijas (bakterēmijas) ir biežs intrahospitalālās nāves iemesls tūlīt

aiz sirds-asinsvadu slimībām, onkoloģiskām saslimšanām un cerebrovaskulārām slimībām.^{1, 2, 3, 7}

Visas bakterēmijas iedala primārās un sekundārās bakterēmijās. Primārās bakterēmijas sākas bez jebkādām skaidri nosakāmām primārās infekcijas pazīmēm citos orgānos un orgānu sistēmās. Veicinošie faktori ir centrālā katetra esamība, vairākkārtēja katetru maiņa, biežas manipulācijas, imunosupresija un citu asinsvadu katetru esamība. Sekundārās bakterēmijas attīstās uz jau esošas slimības fona (pneimoniya, pielonefrīts), tomēr arī šeit kā veicinošais faktors jāatzīmē centrālo asinsvadu katetru lietošana.⁹

Gan primārās, gan sekundārās bakterēmijas bieži saistītas ar katetru lietošanu. Literatūrā apraksta, ka ar katetru lietošanu saistītas asinsvadu infekcijas sastāda apmēram 14% no visām nozokomiālām infekcijām.⁶ CDC apraksta, ka primārās bakterēmijas sastāda pat 64% no visām nozokomiālām bakterēmijām. Pētījumi liecina, ka aptuveni 25 % no visām bakterēmijām ir novēršami, uzsākot uzraudzību un ievērojot labas prakses ieteikumus katetru aprūpē un infekciju kontrolē nodaļā.^{5, 8}

Visbiežākie nozokomiālo bakterēmiju izsaucēji ir koagulāzes negatīvie stafilokoki – *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, *E. Coli*, *Candida spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.* Bieži vien šiem izsaucējiem raksturīga samazināta jutība vai pat rezistence pret vienu vai vairākām antibiotiku grupām.^{7, 8} Īpaša problēma ir pieaugoša mikroorganismu rezistence pret antibiotikām. Meticilīnrezistentais *S. aureus* (MRSA) ir kļuvis par klīniski un epidemioloģiski nozīmīgāko nozokomiālo patogēnu, jo izsaukto infekciju ārstēšana bieži ir apgrūtināta.^{5, 9}

Primārais pētījuma mērķis ir analizēt bakterēmiju epidemioloģisko situāciju slimnīcā un identificēt riska faktorus, lai izveidotu efektīvas vadlīnijas šo infekciju profilaksei.

Metodes

Bakterēmiju izplatības, riska faktoru un izraisošo patogēnu cirkulācijas izvērtēšanai lielā daudzprofilu slimnīcā tika izmantotas divas metodes.

Pirmkārt, lai noskaidrotu biežākos bakterēmiju izsaucējus, tika apkopoti dati par no asinīm izdalīto patogēnu cirkulāciju slimnīcā 2004., 2005. un 2006. gadā. Dati tika apkopoti, izmantojot laboratorijā lietoto *WhoNet* programmu, kurā ievadīta informācija par visiem pozitīvajiem mikrobioloģiskajiem izmeklējumiem, kas veikti attiecīgajā laika periodā. Pēc laboratorijas datu apstrādes identificēti nozīmīgākie patogēni, to rezidences īpatnības un izplatības tendences.

Otrā pētījuma daļa saistīta ar bakterēmijas riska faktoru izvērtēšanu. Lai izvērtētu riska faktorus, veikts prospektīvs gadījumu kontroles pētījums. Pētījuma ilgums bija viens kalendārais gads (01.06.2007.–30.06.2008.). Gadījumu grupu veidoja pacienti, kuriem bija laboratoriski apstiprināta *S. aureus* vai *E. coli* bakterēmija, kā arī pieejami antimikrobās jutības rezultāti. Kontroles grupu veidoja pacienti, kuriem nebija bakterēmijas. Katram gadījumam atlasīti divi kontroles pacienti bez bakterēmijām. Kontroles grupas atlase tika veikta, pēc nejaušības principa izlīdzinot gadījumus pēc uzņemšanas laika slimnīcā tā paša profila nodaļā. Pacients tika iekļauts pētījumā dienā, kurā paņemts asins paraugs nosūtīšanai uz laboratoriju. Pēc citiem faktoriem

pacientu izlīdzināšana nenotika. Gan gadījumu, gan kontroles grupā tika iekļauti pacienti vecumā pēc 18 gadiem.

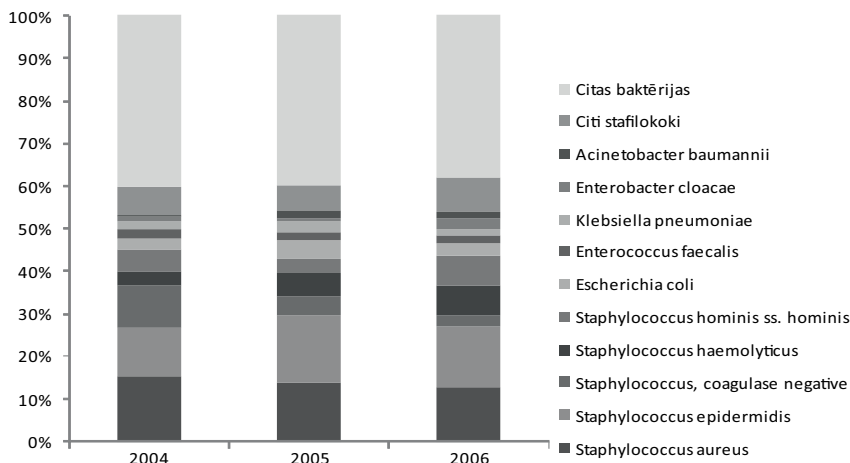
Datus par pētījumā iekļautajiem pacientiem (gan gadījumu, gan kontroles grupā) reģistrēja, sākot no pētījuma 1. dienas, visu hospitalizācijas laiku, līdz pacients izrakstās no slimnīcas, kā arī 30 dienas pēc iekļaušanas pētījumā. Pētījuma laikā tika apkopoti pacientu demogrāfiskie dati, kā arī informācija par medikamentu lietošanu, pamatsaslimšanu, blakusslimībām, medikamentu lietošanu, iepriekšējo hospitalizāciju, veiktajām manipulācijām un antibakteriālo rezistenci.

Pētījuma laikā apkopota informācija par bakterēmijas riska faktoriem, salīdzināta to izplatība nodaļās un ietekme uz hospitalizācijas ilgumu. Prospektīvā pētījuma dizains ļāva noskaidrot arī mirstības risku, jo pieejami divu kohortu dati – pacienti ar bakterēmiju un pacienti bez šīs infekcijas.

Datu analīze veikta, pieņemot 95 % ticamību kā pietiekamu atšķirību pierādīšanai starp grupām. Gadījumu un kontroles grupas kategorisko mainīgo atšķirības izvērtētas, izmantojot Hī kvadrāta testu, un ir veikts tiešs riska izvērtējums, aprēķinot relatīvo risku mirstībai gadījuma un kontroles grupā, un netiešs riska izvērtējums riska faktoriem, izmantojot izredžu attiecības (OR) aprēķinu un tā ticamības intervālu.

Rezultāti

Veicot *WhoNet* esošās informācijas apkopošanu par 2004. gadu, analizē tika iekļauti 219 izolāti, 2005. gadā – 242 izolāti, bet 2006. gadā – 253 izolāti. Lai izslēgtu atkārtotu izolātu esamību, no viena pacienta tika apskatīts viens pozitīvs izolāts. Tika izvēlēts pirmais pozitīvais paraugs. Biežākos izolētos patogēnus var aplūkot 1. zīmējumā.



1. zīmējums. No asinīm biežāko izdalīto patogēnu sadalījums 2004.–2006.gadā

Figure 1. Pathogens recovered from blood samples from 2004 to 2006

No pētījumā iekļautajiem paraugiem 82,5 % bija grampozitīvās baktērijas, tomēr šo gadu laikā ir pieaudzis arī no asinīm izdalīto gramnegatīvo baktēriju īpatsvars.

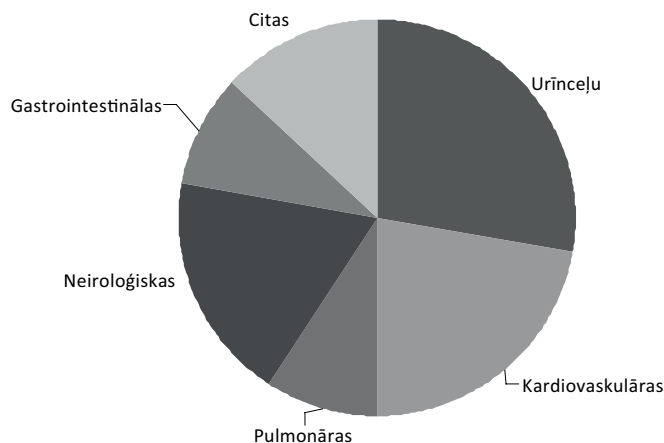
Ļoti reti no asinīm izdalītas sēnītes. Kā redzams, stafilokoki ir biežākie patogēni, kuri izdalīti pacientiem no asinīm. *S. aureus* ir klīniski nozīmīgākais no tiem. Otra nozīmīgākā grampozitīvo patogēnu grupa ir enterokoki un tieši *E. faecalis*. Biežākais gramnegatīvais no asinīm izdalītais patogēns ir *E. coli*, kurš arī uzskatāms par nozīmīgu bakterēmiju izsaucēju. Tam seko *Klebsiella pneumoniae*.

Aplūkojot *S. aureus* izdalīto kultūru skaitu, tas palicis nemainīgs, bet izdalīto *E. coli* īpatsvaram ir tendence pieaugt. 76 (no 86) *S. aureus* paraugiem pieejami antibakteriālās jutības rezultāti. Līdz ar to 2006. gadā par MRSA (pret meticilīnu rezistnts *S. aureus*) uzskatāmi 27,8% (95 % CI: 14,8; 45,5) no asinīm izdalīto stafilokoku, bet 2007. gadā – tikai 17,5 % (95 % CI: 7,9; 33,4).

***S. aureus* un *E. coli* izsauktu infekciju riska faktoru analīze**

Lai izvērtētu *S. aureus* un *E. coli* izsauktu bakterēmiju izplatību dažādās slimnīcas nodaļās un noskaidrotu būtiskākos iemeslus, veikts prospektīvs gadījumu kontroles pētījums. Pētījumā iekļauts 71 pacients ar infekciju un 142 atbilstoši kontroles pacienti. 40 (56,3 %) no gadījumu grupā iekļautajiem pacientiem bija sievietes. No 17 pacientiem ar *E.coli* bakterēmiju 13 bija sievietes, bet no 54 pacientiem ar *S.aureus* bakterēmiju 27 bija sievietes. Kontroles grupā 59,9 % bija sievietes. Tomēr ticama atšķirība nepastāv.

No 54 *S. aureus* bakterēmijām 28 (51,9 %) uzskatāmas par primārām bakterēmijām. 14 no tām saistītas ar intravenozo katetru lietošanu. 17 (31,5 %) gadījumos novērotas sekunduāras bakterēmijas, kuru biežākie iemesli ir pneimonija (5 gadījumi), endokardīts (3 gadījumi), epidurīts. Diviem un mazāk pacientiem – arī peritonīts, ādas, zemādas audu infekcija, meningīts, parofīts, hepatīts. 9 (16,7 %) pacientiem ar bakterēmiju tās iemesls ir neskaidrs.

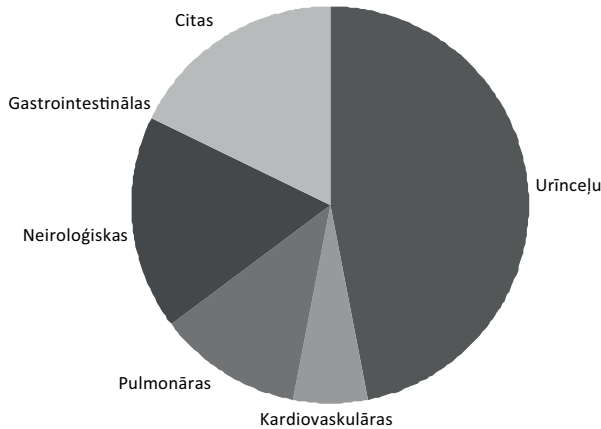


2. zīmējums. Pacientu sadalījums ar *S. aureus* izsauktu infekciju pēc hospitalizācijas diagnozes

Figure 2. Distribution of patients with infection caused by *S. aureus* by diagnosis

No 17 *E. coli* bakterēmijām divas uzskatāmas par primārām, 11 – par sekundārām un 4 gadījumos iemesls ir neskaidrs. Par sekundāro infekciju iemesliem tik minētas urīnceļu infekcijas, ādas un zemādas audu infekcijas, pneimonijas, spondilodiscīts, infiltrāts vēderā, imunosupresija.

Proporcionāli lielākais pacientu skaits hospitalizēts nefroloģijas, pulmonoloģijas, intensīvās terapijas un transplantaloģijas nodaļās. Biežākie hospitalizācijas iemesli pacientiem bija urīnceļu, kardiovaskulāras, neiroloģiskās, gastrointestinālās un pulmonārās saslimšanas. Izvērtēt hospitalizācijas iemeslu kā riska faktoru šajā pētījumā nav iespējams, jo kontroles grupas pacienti tika atlasīti no tās pašas nodaļas, un tas rada iespēju līdzīgai diagnozei (atbilstoši nodaļas profilam). Gadījumu grupas pacientu sadalījums pēc hospitalizācijas iemesla ir aplūkojams 2. un 3. zīmējumā. Tomēr skaidri iezīmējas, ka pacientiem ar *E. coli* izsauktu infekciju kā hospitalizācijas diagnoze daudz biežāk novērotas urīnceļu saslimšanas.



3. zīmējums. Pacientu sadalījums ar *E. coli* izsauktu infekciju pēc hospitalizācijas diagnozes

Figure 3. *Distribution of patients with infection caused by E. coli by department*

Bakterēmiju riska faktori, kuriem pētījuma laikā tika pievērsta īpaša uzmanība, ir centrāla un perifēra vaskulāra pieeja, urīnpūšļa kateterizācija un ķirurģisku manipulāciju veikšana pirms asins parauga paņemšanas. Riska faktoru sadalījums aplūkojams 1. tabulā.

1. tabula

Riska faktoru sadalījums gadījumu un kontroles grupā

Characteristics of risk factors in the case group and the control group

Riska faktors	Gadījumu grupa (n = 71)	Kontroles grupa (n = 142)	OR (CI 95%)
Centrāla vaskulāra pieeja	34	24	4,52 (2,27; 9,03)
Perifēra vaskulāra pieeja	41	80	1,06 NS
Urīnpūšļa katetrs	20	17	2,88 (1,32; 6,33)
Ķirurģiska manipulācija	21	24	2,07 (1; 4,27)

Centrāla vaskulāra pieeja ir augstākā riska manipulācija attiecībā uz bakterēmijām, un arī urīnkatetru esamība ticami biežāk novērota gadījumu grupā. Aplūkojot riska faktoru sadalījumu *E. coli* un *S. aureus* bakterēmiju gadījumā, ticama atšķirība netika novērota nevienam pētītajam riska faktoram.

Mirstība. Hospitalizācijas laikā miruši 35,2 % (25/71) gadījuma grupas pacienti un 5,6 % (4/142) kontroles grupas pacienti. Tas nozīmē, ka mirstības relatīvais risks ir 12,5 jeb mirstības risks pacientiem ar bakterēmiju ir 12,5 reizes lielāks nekā kontroles grupas pacientiem. Novērotā mirstība *S. aureus* un *E. coli* gadījumu grupā neatšķiras.

Apzinot pacientus 30. dienā pēc iekļaušanas pētījumā, miruši ir 25 pacienti. Salīdzināt mirstību 30. dienā nav iespējams, jo par 52 pacientiem ievākt datus 30. dienā nav bijis iespējams (pacients izrakstīts no slimnīcas, bet nav bijis iespējams šo pacientu sazvanīt). Starp mirstību *S. aureus* (27,8 %) un *E. coli* (29,4 %) bakterēmijas pacientu grupā ticamas atšķirības nav.

30. dienā pēc iekļaušanas pētījumā 20 gadījumu grupas pacienti (5 pacienti ar *E. coli* bakterēmiju un 15 pacienti ar *S. aureus* bakterēmiju) un tikai 2 kontroles grupas pacienti atradās slimnīcā.

Diskusija

Bakterēmijas izraisīto mikroorganismu cirkulācijai daudzprofilā slimnīcā un bakterēmiju riska faktoru apzināšanai un novēršanai Latvijā līdz šim nav pievērsta liela uzmanība. Tika veikta retrospektīva laboratorijas datu analīze un prospektīvs gadījumu kontroles pētījums.

Trīs gadu laboratorijas datu analīze apstiprināja, ka *S. aureus* un *E. coli* ir nozīmīgi bakterēmiju izsaucēji un, neskatoties uz nemainīgu *S. aureus* izolātu skaitu, MRSA procentuāli no visiem *S. aureus* izolātiem samazinās. Viens no iemesliem var būt šī mikroorganisma atpazīstamības pieaugums slimnīcā un Latvijā un mērķtiecīgi infekcijas kontroles pasākumi izplatības kontrolei. Kopējais no asinīm izdalīto patogēnu skaits atbilst citos pētījumos novērotajam.⁸

Apzinot pacientus ar bakterēmijām, jāņem vērā, ka hospitalizēti pacienti parasti ir ar nopietnām slimībām un tāpēc daudz uzņēmīgāki pret ārstniecības iestādē esošiem mikroorganismiem.⁷ Pacientu uzņēmību veicina tādi riska faktori kā invazīvas manipulācijas, katetri, operācijas, liels pacientu skaits un personāla roku higiēnas neievērošana. Uz pierādījumiem balstīti infekciju kontroles pasākumi var palīdzēt samazināt bakterēmiju skaitu pat par 25 %. Viena no riska grupām ir intensīvās terapijas pacienti. Šo pacientu aprūpē tiek lietoti gan centrālie, gan perifērie katetri, urīnkatetri, drenas, zondes. Kā otra nozīmīga augsta riska nodaļa pētījumā iezīmējās nefroloģijas nodaļa.⁷

Kā nozīmīgākais riska faktors pētījumā konstatēta centrālā venozā katetra un urīnkatetra esamība pirms parauga paņemšanas. Citiem faktoriem ticami lielāks risks netika novērots. Ņemot vērā šo novērojumu, bakterēmijas samazināšanas pasākumus vajadzētu sākt ar katetru lietošanas vadlīniju izstrādi un ieviešanu klīniskajā praksē.

Salīdzinājumā ar citiem pētījumiem gadījumu kontroles pētījumā novērotā mirstība ir augsta.^{7, 8} Mirstības dati parāda ticami augstāku mirstību gadījumu grupā

nekā kontroles grupā. Tomēr šo datu interpretācija jāveic piesardzīgi, jo pacienti, kuriem bakterēmija pievienojas kā blakus saslimšana, parasti ir klīniski smagāki un viņu paredzamā mirstība jau bez infekcijas pievienošanās ir lielāka.

Aplūkojot bakterēmiju izplatību slimnīcā, jāņem vērā, ka asins paraugu ņemšanas prakse dažādās nodaļās var ievērojami atšķirties. Teorētiski ir definēti asins uzsējumu ņemšanas iemesli un laiki, tomēr praksē bieži ir sastopamas dažādas deviācijas. Asins uzsējumi reizēm netiek paņemti vispār vai arī tiek paņemti nepareizi (pēc antibiotiku ievadīšanas, kad pacientam nav drudža pazīmju). Tāpat laboratorijā tiek novēroti, ka asins uzsējumu paņemšanas procedūras neatbilst noteiktajiem standartiem (nav pilnīgs uzsējumu skaits, bieži ir kontaminēti asins uzsējumu paraugi).

Augstais koagulāzes negatīvo stafilokoku īpatsvars asins uzsējumos visdrīzāk norāda uz to iespējamo kontamināciju. Turpmāk īpaša vērība būtu jāpiešķir asins uzsējumu ņemšanas tehnikai, jo tas varētu ievērojami samazināt interpretācijas kļūdas un nevajadzīgu antibiotiku lietošanu.

Pētījumā iegūtie rezultāti norāda uz intervences nepieciešamību. Esošā informācija varētu kalpot par izejas datu bāzi, kurā novērot uzlabošanos.

Literatūra

1. Wenzel R. P., Edmond M. B. The Impact of Hospital-Acquired Bloodstream Infections. *Emerging Infectious Diseases*, 2001, Vol. 7, No. 2.
2. Prevention of hospital-acquired infections, WHO, 2nd edition, 2002.
3. Dumpis U., Balode A., Vigante D., Narbutė I., Valinteliene R., Pirags V., et al. Prevalence of nosocomial infections in two Latvian hospitals. *Euro Surveill*, 2003, March 8(3), 73–78.
4. Miklasevics E., Haeffman S., Balode A., Sanchez B., Martinsons A., Olsson-Liljequist B., Dumpis U. Report on the first PVL-positive community-acquired MRSA strain in Latvia. *Euro Surveill*, 2004, Nov 9(11), 29–30.
5. Garner J. S., Jarvis W. R., Emori T. G., Horan T. C., Hughes J. M. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am. J. Infection Control* 1988; 16,128–140.
6. Maki Dg. Infection due to infusion therapy. In: Bennett J. V., Brachman P. S. (eds.) *Hospital Infections*. 4th ed. Boston: Little Brown, 1998.
7. Apostolopoulou E., Minetou E., Dimitraki T., Diplou A., Katostasaras T. Nosocomial Blood-Stream Infections in Medical-Surgical Intensive Care Units: Epidemiologic Characteristics and Factors Influencing Outcome. *ICUS Nurs. Web J.* 2003, Issue 16.
8. Friedman N. D., Kaye K. S., Stout J. E., McGarry S. A., Trivette S. L., Briggs J. P., Lamm W., Clark C., MacFarquhar J., Walton A. L., Reller L. B., Sexton D. J. Health care-associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann. Intern. Med.* 2002, Nov 19, 137(10), 791–797.
9. Aygen B., Yoruk A., Yyldyz O., Alp E., Kocagoz S., Sumerkan B., Doganay M. Bloodstream infections caused by *Staphylococcus aureus* in a university hospital in Turkey: clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2004, 10, 309–314.

Summary

Aim of the research: *to analyze epidemiological situation of blood stream infections at the Pauls Stradins Clinical University Hospital and to identify risk factors to develop efficient guidelines for prophylactic measures against this infection.*

Place of the research: *Pauls Stradins Clinical University Hospital, Rīga, Latvia.*

Methodology

*Collected data on blood-distributed pathogen circulation at the hospital in 2004, 2005, and 2006. In order to evaluate risk factors of bloodstream infection, a prospective case control research was carried out in a year from 01.06.07 to 30.06.08. The case group consisted of patients that had positive laboratory results on *S. aureus* or *E. coli* bloodstream infections, and the control group consisted of patients that had no infection. During the research, the authors analyzed the information on risk factors of bloodstream infection, its dissemination in the wards, influence on the length of hospitalization, and mortality risk.*

Results

*Staphylococcus is the most frequent gram-positive pathogen distributed in patients' blood samples (*S. aureus* is the clinically most important). The most frequent gram-negative pathogen distributed by blood is *E. coli*. The most significant risk factor of the research is the usage of catheters for patients (including central catheters, peripheral vascular catheters, and urine catheters). For bloodstream infection reduction measures, it is necessary to develop guidelines for catheter usage and introduce them in clinical practice, and to introduce control of the blood sample extraction procedure as well as other infection control measures.*

Saslimstība ar kuņģa vēzi Latvijā *Gastric Cancer in Latvia*

Jānis Misiņš^{1,2}, Armands Sīviņš^{2,3}, Aivars Stengrevics³, Viesturs Krūmiņš³, Viesturs Boka³, Mārcis Leja^{2,3,4}

¹ Veselības statistikas un medicīnas tehnoloģiju valsts aģentūra;
Duntes ielā 12/22, Rīga, LV-1005, janis.misins@vsmtva.gov.lv

² Latvijas Universitāte;

Raiņa bulvāris 19, Rīga, LV-1586; lu@lu.lv

³ Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīca;
Hipokrāta iela 4, Rīga, LV-1079; aslimnica@aslimnica.lv

⁴ Gremošanas slimību centrs "GASTRO";
Linezera iela 6, Rīga, LV-1006; info@gastrocentrs.lv

Darba mērķis ir analizēt kuņģa vēža saslimstības, izplatības un mirstības tendences Latvijā. Darbam izmantoti Latvijas vēža slimnieku reģistra dati.

Saslimstībai un mirstībai ir tendence samazināties, taču tā ir ievērojami augstāka nekā vidēji Eiropā. Lielākā daļa jauno kuņģa vēža gadījumu tiek diagnosticēta III un IV stadijā. Letalitāte pirmajā gadā pēc kuņģa vēža diagnosticēšanas ir otra augstākā pēc plaušu vēža, piecu gadu dzīvildze – trešā zemākā aiz barības vada un plaušu vēža. Pacientu kontingents ir pieaudzis, taču tas ieņem sesto vietu, salīdzinot ar citu lokalizāciju vēžiem. Lai uzlabotu stāvokli, Latvijā ir jāpanāk savlaicīga kuņģa vēža diagnostika.

Atslēgvārdi: kuņģa vēzis, incidence, prevalence, dzīvildze, mirstība

Ievads

Vēl nesen kuņģa vēzis bija otrs visbiežāk sastopamais ļaundabīgais audzējs pasaulē. Pēdējā laikā katru gadu tiek reģistrēti aptuveni 934 000 jauni kuņģa vēža gadījumi. 2002. gadā ar 8,6 % jaunu gadījumu kuņģa vēzis ieņēma ceturto vietu, paliekot aiz plaušu, krūšu un kolorektālā vēža. Tomēr, būdams par iemeslu 700 000 nāves gadījumiem katru gadu, tas joprojām ir otrs biežākais ļaundabīga audzēja izraisīts nāves cēlonis¹. Aptuveni 90 % kuņģa vēžu ir adenokarcinomas, kas histoloģiski iedalās divos galvenajos tipos: 1) intestinālā tipā un 2) difūzajā tipā. Intestinālais tips biežāk tiek diagnosticēts vīriešiem un gados vecākiem pacientiem. Savukārt difūzais tips salīdzinoši vienlīdz bieži tiek diagnosticēts kā vīriešiem, tā arī sievietēm, un tas ir biežāks gados jauniem indivīdiem. Intestinālā tipa audzēji dominē augsta riska ģeogrāfiskajos apvidos, tādos kā Japāna, Ķīna, Austrumeiropa, Centrālamerika un Dienvidamerikā. Difūzā tipa kuņģa adenokarcinomai ir daudz vienveidīgāka ģeogrāfiskā izplatība. Pēdējā laikā tiek novērota tendence, ka saslimstība ar intestinālā tipa kuņģa vēzi samazinās, bet saslimstība ar difūzā tipa audzēju pieaug². Iespējams, ka saslimstība samazinās sakarā ar sālītas, kūpinātas un konservētas pārtikas patēriņa samazināšanos, augļu un dārzeņu patēriņa pieaugumu,

dzīves kvalitātes uzlabošanas un biežāku antibiotiķu lietošanu, kas varētu būt samazinājis *Helicobacter pylori* infekciju³. Kopš pagājušā gadsimta piecdesmitajiem gadiem, pasaules lielākajā daļā mirstība no kuņģa vēža turpina samazināties. Tomēr kuņģa vēzis joprojām ir slimība ar sliktu prognozi un augstu mirstību. Audzējiem, kas ir lokalizēti kuņģa kardiijas daļā, ir sliktāka prognoze attiecībā uz piecu gadu dzīvildzi un augstāku mirstību operēto pacientu vidū salīdzinājumā ar audzēju, kas lokalizēts vērtneka ieejā. Ja audzējs ir norobežots kuņģa sienas gļotādas slānī, piecu gadu dzīvildze ir 95 %.

Statistiskā informācija liecina, ka kuņģa vēzis bieži tiek diagnosticēts novēloti. Šajos gadījumos vienīgais ārstēšanas veids ir kuņģa rezekcija. Ņemot vērā minēto, piecu gadu relatīvais dzīvildzes rādītājs ASV ir mazāks nekā 20 %. Līdzīgi tas ir arī Eiropas valstīs, kur piecu gadu relatīvais dzīvildzes rādītājs ir robežās no 10 % līdz 20 %². Izņēmums ir Japāna, kur šis rādītājs tuvojās 60 %⁴. Šāds līmenis Japānā ir sasniegts, jau kopš sešdesmitajiem gadiem masveida skrīningam izmantojot fluorogrāfiju.

Materiāli un metodes

Darba mērķis ir analizēt kuņģa vēža saslimstības, izplatības un mirstības tendences Latvijā, izvērtēt saslimstības dzimumu struktūras īpatnības.

Analīze veikta, izmantojot Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Latvijas Onkoloģijas centra Latvijas vēža slimnieku reģistra datus. Analīzei izmantoti saslimstības, izplatības un mirstības rādītāji, rēķinot uz 100 000 Latvijas iedzīvotājiem. Saslimstība ir analizēta laika periodā no 1980. līdz 2007. gadam, bet pacientu kontingents – laika periodā no 1998. gada līdz 2007. gadam. Mirstība ir analizēta laika periodā no 1980. gada līdz 2006. gadam izmantojot PVO mirstības datubāzi (*European Mortality Database*). Datubāze satur standartizētos rādītājus (pēc Eiropas standartpopulācijas), kas aprēķināti, izmantojot standartizācijas tiešo metodi.

Mirstību ietekmējošo faktoru analīzei vērtēts dažādu kuņģa vēža stadiju īpatsvars diagnostikas brīdī. Piecu gadu novērojamā dzīvildze analizēta pēc 1988.–2002. gadā pirmreizēji diagnosticēto saslimšanas gadījumu datiem.

Rezultāti

Saslimstība ar kuņģa vēzi vīriešu vidū Latvijā 2006. gadā (28,6 uz 100 000; vecuma standartizācija pēc Eiropas standartpopulācijas) bija ievērojami augstāka nekā vidēji Eiropas Savienībā (ES25 – 18,2). Augstāka saslimstība vīriešu vidū 2006. gadā bija reģistrēta tikai Lietuvā (36,8), Polijā (34,8), Igaunijā (33,4) un Portugālē (28,9). Arī sieviešu vidū reģistrētā saslimstība Latvijā (14,6) pārsniedz ES25 vidējo rādītāju (8,1). Augstāka saslimstība sievietēm tika reģistrēta tikai Lietuvā (17,9), Igaunijā (17,5) un Portugālē (15,4)⁵.

Saslimstība ar kuņģa vēzi Latvijā laika periodā no 1980. līdz 2007. gadam ir nedaudz samazinājusies kā vīriešu, tā arī sieviešu vidū (1. attēls). Analizētā perioda laikā saslimstība vīriešu vidū bija vidēji 37 gadījumi uz 100 000 vīriešiem gadā, un sieviešu vidū – vidēji 26 jauni gadījumi uz 100 000 sievietēm gadā. Visā laika

periodā saslimstība vīriešu vidū pārsniedza saslimstību sieviešu vidū. Augstākais saslimstības līmenis vīriešu vidū tika novērots 1983. gadā, sasniedzot 43,9 gadījumus uz 100 000 vīriešiem. Visvairāk jaunu kuņģa vēža gadījumu šajā gadā tika diagnosticēti vīriešiem 50–54 gadu un 70–74 gadu vecumā. Augsta saslimstība vīriešu vidū bija arī 1992. gadā – 41,2 gadījumi uz 100 000 vīriešiem. Savukārt zemākā saslimstība vīriešu vidū tika novērota 2002. gadā, rādītājam nokrītot līdz 30,3 gadījumiem uz 100 000 vīriešiem. Visaugstākā saslimstība sieviešu vidū tika novērota 1980. gadā, saslimstības rādītājam sasniedzot 30,5 gadījumus uz 100 000 sievietēm. Visvairāk jaunu kuņģa vēža gadījumu šajā gadā tika diagnosticēti sievietēm vecumā no 65 līdz 74 gadiem. Augsta saslimstība sievietēm tika novērota arī 1995. gadā (29,7 uz 100 000 sievietēm) un 1990. gadā (28,0 uz 100 000 sievietēm). Savukārt viszemākais saslimstības līmenis sieviešu vidū bija 2003. gadā, sasniedzot 21,9 gadījumus uz 100 000 sievietēm. Pēdējo gadu laikā, pēc kārtējā kāpuma, ir vērojama tendence saslimstībai ar kuņģa vēzi samazināties abu dzimumu vidū. 2007. gadā saslimstības rādītājs vīriešiem bija 36,2 gadījumi uz 100 000 vīriešiem, bet sievietēm – 23,2 gadījumi uz 100 000 sievietēm. Rādītāji ir zemāki nekā analizējamā perioda sākumā 1980. gadā, taču tie pārsniedz analizējamā perioda laikā novēroto zemāko saslimstību.

Izvērtējot to pacientu vecuma struktūru, kam pirmreizēji ir diagnosticēti kuņģa vēzis, ir jāsecina, ka salīdzinoši vairāk jaunu kuņģa vēža gadījumu abu dzimumu pacientiem tiek diagnosticēti vecumā no 65 līdz 79 gadiem.

Līdzīgi kā pārējās Eiropas valstīs, arī Latvijā lielākā daļa jauno kuņģa vēža gadījumu tiek diagnosticēti novēloti (1. tabula). Piemēram, 2007. gadā tikai 8,4 % jauno kuņģa vēža gadījumu tika diagnosticēti I stadijā, 11,2 % – II stadijā, 22,9 % – III stadijā un 45,9 % – IV stadijā. 11,7 % gadījumu slimības stadija nav noteikta. Sakarā ar novēloto slimības diagnosticēšanu, arī piecu gadu dzīvildze ir salīdzinoši zema (2. attēls). Tomēr tā ir aptuveni vidējo Eiropas Savienības rādītāju līmenī.

Izvērtējot ļaundabīgo audzēju struktūru Latvijā no 1991. līdz 2007. gadam, ir redzams, ka saslimstībai ar kuņģa vēzi uz kopējā ļaundabīgo audzēju fona ir tendence samazināties (3. attēls). Ja 1991. gadā kuņģa vēzis ar 10,3 % kopējā ļaundabīgo audzēju struktūrā ieņēma III vietu (plaušu vēzis – 15,5 %; ādas vēzis kopā ar melanomu – 10,6 %), tad 2007. gadā kuņģa vēzis kopējā ļaundabīgo audzēju struktūrā ieņēma VII vietu ar 6,1 % (ādas vēzis kopā ar melanomu – 11,8 %; plaušu vēzis – 11,3 %; krūts vēzis – 11,1 %; kolorektālais vēzis – 10,7 %; prostatas vēzis – 8,6 %).

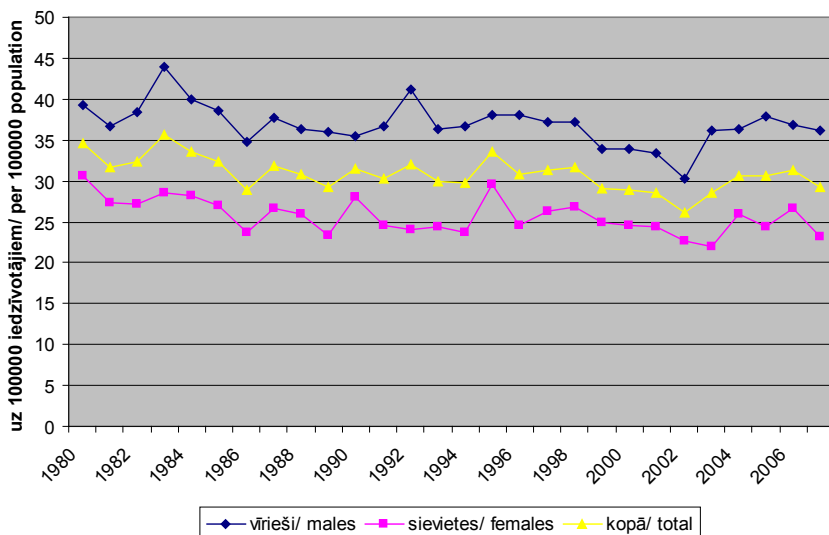
Lai gan saslimstībai ar kuņģa vēzi un mirstībai no kuņģa vēža no 1980. līdz 2007. gadam ir tendence samazināties, izmaiņas kuņģa vēža pacientu kontingentā (4. attēls) ir nelielas, taču ar tendenci pieaugt kopš 2004. gada. 2007. gadā kuņģa vēža izplatības rādītājs (116,9 uz 100 000 Latvijas iedzīvotājiem) ir lielākais kopš 1998. gada.

Analizējot standartizētos mirstības rādītājus kuņģa vēža izraisītai mirstībai Latvijā, jāsecina, ka, lai gan mirstībai ir tendence samazināties, tā ievērojami pārsniedz vidējos rādītājus Eiropas reģionā un, vēl jo vairāk, vidējos rādītājus Eiropas Savienībā (5. attēls). Bez tam 2006. gadā mirstība no kuņģa vēža Latvijā ir pieaugusi. 2006. gadā standartizētais mirstības rādītājs Latvijā mirstībai no kuņģa

vēža bija 19,1 uz 100 000 iedzīvotājiem (Eiropas standartpopulācija), vidēji Eiropas reģionā – 13,1, bet vidēji Eiropas Savienībā – 9,1. Līdzīgi kā saslimstība, arī mirstība no kuņģa vēža vīriešu vidū ir ievērojami augstāka nekā sievietes vidū. Standartizētais mirstības rādītājs vīriešiem 2006. gadā bija 30,4 uz 100 000 iedzīvotājiem, savukārt vīriešu vidū Eiropas reģionā vidēji – 19,6, bet Eiropas Savienībā vidēji – 13,3 (6. attēls). Arī sievietes mirstība no kuņģa vēža Latvijā pārsniedz vidējo rādītāju kā Eiropas reģionā, tā arī ES. Standartizētais mirstības rādītājs sievietēm 2006. gadā bija 12,4 uz 100 000 iedzīvotājiem, savukārt sievietes vidū Eiropas reģionā vidēji – 8,7, bet Eiropas Savienībā vidēji – 6,0 (7. attēls).

Pēdējo gadu laikā (2001–2007) Latvijā īpašas izmaiņas kuņģa vēža izraisītās mirstības rādītājos nav novērojamas (8. attēls). Mirstība vīriešu vidū šajā periodā bija robežās no 26,6 līdz 31,3 uz 100 000 vīriešiem (Latvijas populācija). Savukārt sievietes mirstība bija robežās no 18,4 līdz 21,6 uz 100 000 sievietēm.

Analizētajā periodā (1998–2007) pirmā gada letalitāte pēc kuņģa vēža diagnosticēšanas ir svārstīga (9. attēls). Lai gan 2007. gadā pirmā gada letalitātei ir viens no zemākajiem līmeņiem – 57 % (56,8 % – 2003. gadā), tā joprojām ir salīdzinoši augsta.

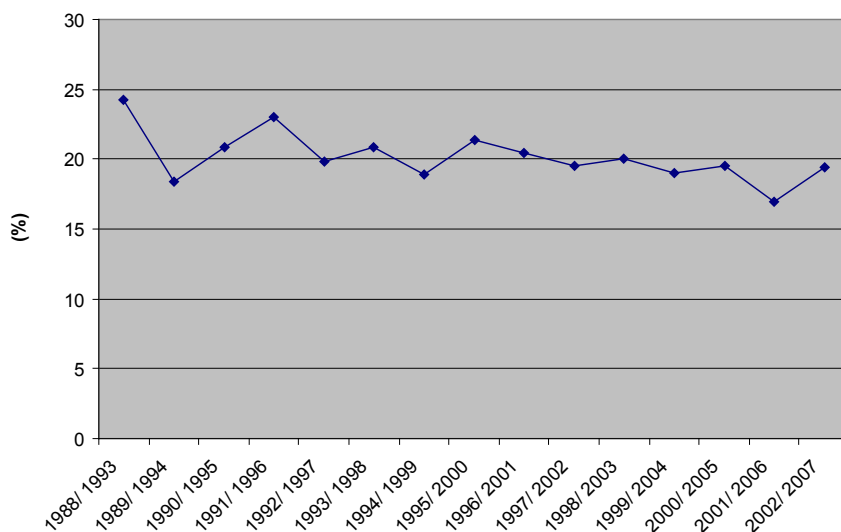


1. attēls. Saslimstība ar kuņģa vēzi (C16) Latvijā, uz 100 000 Latvijas iedzīvotājiem
 Figure 1. Incidence of gastric cancer (C16) in Latvia, crude rate per 100,000 population

1. tabula

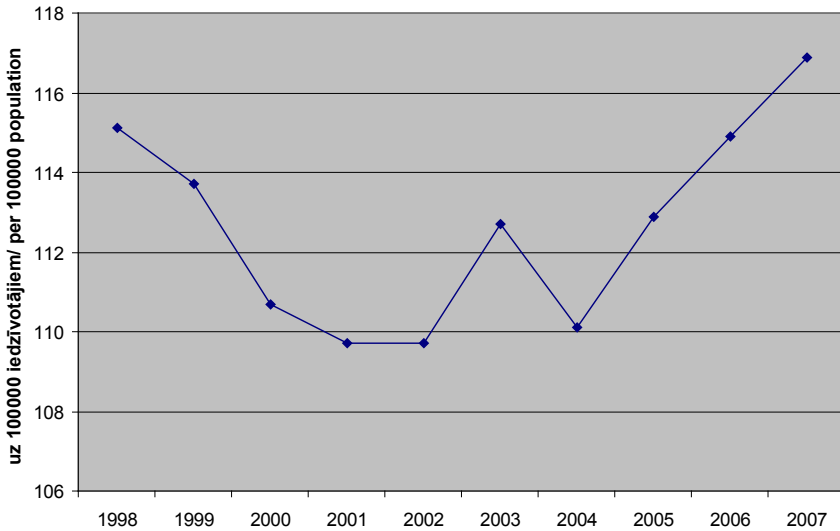
Pirmreizēji diagnosticēta kuņģa vēža (C16) stadija Latvijā, %
The stages of new gastric cancer (C16) cases in Latvia, %

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
I stadija/I stage	6,6	7,6	7,8	8,4	9,2	7,9	8,4
II stadija/II stage	13	14,1	16	12,6	15,2	14,2	11,2
III stadija/III stage	26,1	22,4	22,8	24,4	23,5	23,8	22,9
IV stadija/IV stage	49,8	50,4	46,9	45,8	44,3	44,5	45,9
Nav zināma/ unknown	4,5	5,5	6,4	8,7	7,8	9,5	11,7



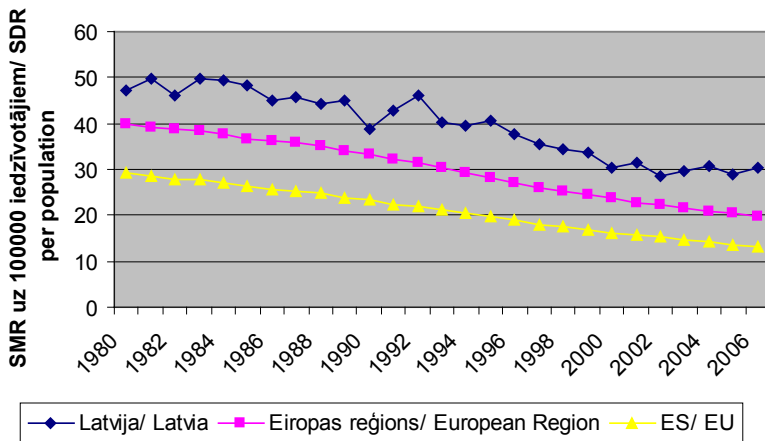
2. attēls. Piecu gadu novērojamā dzīvildze pacientiem ar kuņģa vēzi (C16) Latvijā, %
 (diagnozes noteikšanas gads/ references gads)

Figure 2. 5-year observed survival in patients with gastric cancer (C16) in Latvia, % (the year the diagnose was set up / reference year)



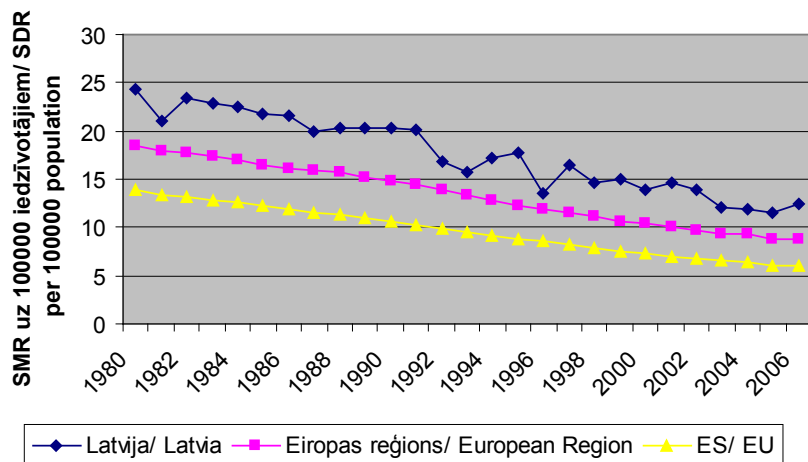
3. attēls. Kuņģa vēža (C16) proporcija kopējā ļaundabīgo audzēju saslimstības struktūrā Latvijā, %

Figure 3. Proportion of gastric cancer (C16) in the total structure of malignant neoplasms in Latvia, %

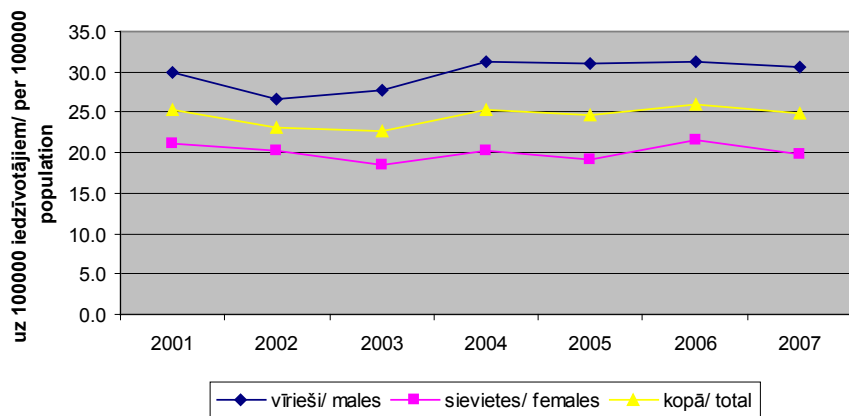


6. attēls. Kuņģa vēža izraisītais mirstības dinamika Latvijā vīriešiem, uz 100 000 iedzīvotājiem, Eiropas standartpopulācija, Standartizētais mirstības rādītājs

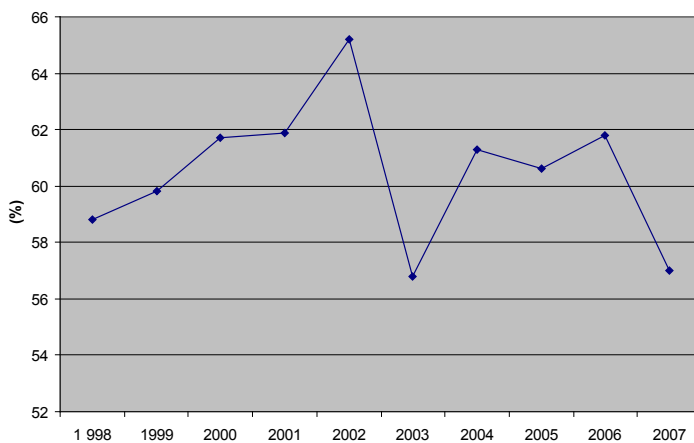
Figure 6. SMR in males, malignant neoplasm of stomach, per 100,000, European standard population



7. attēls. Kuņģa vēža izraisītas mirstības dinamika Latvijā sievietēm, uz 100 000 iedzīvotājiem, Eiropas standartpopulācija, Standartizētais mirstības rādītājs
 Figure 7. SMR in females, malignant neoplasm of stomach, per 100,000, European standard population

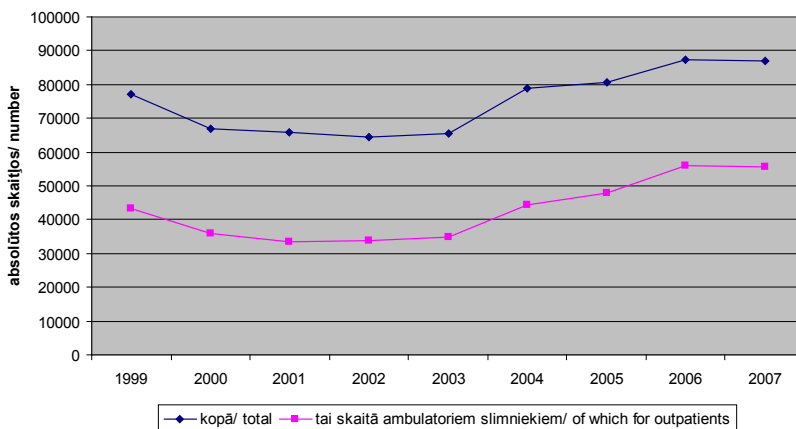


8. attēls. Mirstība no kuņģa vēža (C16) Latvijā, uz 100 000 Latvijas iedzīvotājiem
 Figure 8. Mortality caused by gastric cancer (C16) in Latvia, crude rate per 100,000 population



9. attēls. Letalitāle pirmajā gadā pēc kuņģa vēža diagnosticēšanas Latvijā, uz gada 1. janvāri, %

Figure 9. Gastric cancer case fatality during the first year after disease diagnostics in Latvia, %



10. attēls. Ezofagogastroduodenoskopiju skaits Latvijā

Figure 10. The number of esophagogastroduodenoscopies in Latvia

Diskusija

Kuņģa vēzis, tāpat kā visā Eiropā, ir ievērojama problēma arī Latvijā. Lai gan pēdējo gadu laikā nav novērojams būtisks saslimstības vai mirstības pieaugums Latvijā, tas ievērojami pārsniedz kā Eiropas reģiona valstu, tā arī Eiropas Savienības dalībvalstu vidējos rādītājus. Iespējams, saslimstības mazināšanās ir saistīta ar iedzīvotāju dzīvesveida un ieradumu maiņu, samazinot uzturā sālītas, kūpinātas un konservētas pārtikas patēriņu, kā arī ikdienā vairāk lietojot augļus un dārzeņus.

Lai gan pēdējā laikā ezofagogastroduodenoskopiju skaitam Latvijā ir tendence pieaugt, kuņģa vēzis joprojām tiek diagnosticēts pārsvarā III vai IV slimības stadijā. Savukārt I stadijā, kas nodrošinātu labu prognozi veiksmīgai ārstēšanai un izdzīvošanai, tiek diagnosticēti tikai mazāk par 10 % jaunu kuņģa vēža gadījumu.

Izvērtējot novēloti diagnosticētos vēža gadījumus, Latvijas onkoloģijas centra speciālisti ir secinājuši, ka galvenie diagnostikas kļūdu gadījumu iemesli ir nepilnīga un ilgstoša slimnieku izmeklēšana, piemēram, vēdera sāpju gadījumā veicot tikai ultrasonogrāfiju, konservatīva gastrīta, anēmijas ārstēšana bez diagnozes precizēšanas, nesekmīga konservatīva kuņģa čūlas slimības ārstēšana bez ķirurga konsultācijas, kompleksas rentgenoloģiskas un endoskopiskas diagnostikas nelietošana. Tomēr vēža ielaistības galvenie cēloņi ir vēla griešanās pēc medicīniskās palīdzības, kā arī slēpta slimības gaita⁸.

Tā kā kuņģa vēzis ir slimība ar sliktu prognozi un augstu mirstību, vēža novēlota diagnosticēšana tikai pasliktina prognozi. Letalitāte pirmajā gadā pēc kuņģa vēža diagnosticēšanas Latvijā ir otra augstākā uzreiz pēc plaušu vēža. Kopš 2004. gada, letalitāte ir nedaudz samazinājusies, taču tā joprojām ir ļoti augsta (57,0 % – 2007; 61,8 % – 2006; 60,6 % – 2005; 61,3 % – 2004). Arī piecu gadu dzīvildzes prognoze ir salīdzinoši sliktā. Kuņģa vēža gadījumā piecu gadu novērojamā dzīvildze Latvijā ir trešā zemākā, paliekot aiz barības vada vēža un plaušu vēža. Kopš 2002. gada piecu gadu novērojamā dzīvildze kuņģa vēža gadījumā ir mazāka par 20 %.

Kuņģa vēža pacientu kontingents pēdējo gadu laikā ir nedaudz pieaudzis (116,9 uz 100 000 iedzīvotājiem 2007. gadā; 114,9 – 2006; 112,9 – 2005), tomēr tas ieņem sesto vietu, salīdzinot ar citu lokalizāciju vēžiem. Atbilstoši slimības stadijai 2007. gadā kuņģa vēža slimnieku kontingents iedalījās šādi: 23,6 % – I stadija, 34,2 % – II stadija, 25,5 % – III stadija, 7,7 % – IV stadija.

Mirstības līmenis Latvijā ir salīdzināts ar vidējiem rādītājiem Eiropas reģionā, kas ietver 53 Eiropas reģiona valstis un Eiropas Savienībā, kas ietver 27 dalībvalstis. Mirstība no kuņģa vēža Latvijā, līdzīgi kā tas ir arī pārējās Eiropas reģiona valstīs, pakāpeniski samazinās, tomēr tā ievērojami pārsniedz vidējos rādītājus kā Eiropas reģiona valstīs, tā arī Eiropas Savienības dalībvalstīs.

Analizējot saslimstības ar kuņģa vēzi un mirstības no kuņģa vēža datus ir redzams, ka, lai gan saslimstība un mirstība Latvijā mazinās, tomēr tas notiek ne tik strauji kā citās attīstītajās valstīs un šobrīd vēl saglabājas salīdzinoši augstā līmenī. Abiem šiem rādītājiem atsevišķos gados ir vērojams būtisks vērtības pieaugums. Iemesli tam varētu būt vairāki. Saslimstības gadījumā skaidrojums varētu būt gan jaunās metodes ieviešana diagnostikā, gan arī kvalitatīvāku datu piegāde Latvijas vēža slimnieku reģistram, kā rezultātā pieaugtu reģistrēto pacientu skaits. Savukārt mirstības pieaugums varētu būt sekas problēmām veselības aprūpes organizēšanā, onkologa pieejamības problēmām rajonu iedzīvotājiem, pacientu ekonomiskajam stāvoklim, augstākam novēloti diagnosticētu vēža slimnieku skaitam iepriekšējos gados. Būtu nepieciešams veikt atsevišķu pētījumu, lai izvērtētu šādu rādītāju izmaiņu cēloni, lai noteiktu, vai izmaiņas ir saistītas ar labāku diagnostiku, pieejamības nodrošināšanu pie onkologa, pacientu skrīningu, finansējumu, datu plūsmas uzlabošanu.

Saņemtais atbalsts

Šis pētījums ir veikts Valsts pētījumu „Latvijas iedzīvotāju dzīvildzi un dzīves kvalitāti apdraudošo galveno patoloģiju zinātniska izpēte ar multidisciplināra pētnieciskā konsorcijs palīdzību” programmas ietvaros, kā projekta „Diagnostikas metožu izstrāde ļaundabīgu audzēju riska faktoru noteikšanai, agrīnai audzēju un pirmsvēža stāvokļu diagnostikai, audzēju terapijas optimizēšanai” uzdevums.

Literatūra

1. Parkin D. M., Bray F., Ferlay J., Pisani P. Global Cancer Statistics, 2002. *CA Cancer J. Clin.* 2005, 55: 74–108.
2. Crew K. D., Neugut A. I. Epidemiology of Gastric Cancer. *World J. Gastroenterol.* 2006, 12(3), 354–362.
3. Keighley M. R. B. Gastrointestinal Cancers in Europe. *Aliment Pharmacol. Ther.* 2003, 18 (Suppl. 3), 7–30.
4. Khushalani N. I. Cancer of the Esophagus and Stomach. *Mayo Clin. Proc.* June 2008, 83(6), 712–722, www.mayoclinicproceedings.com.
5. Ferlay J., Autier P., Boniol M., Heanue M., Colombet M., Boyle P. Estimates of the Cancer Incidence and Mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology* 2007, 18, 581–592; doi:10.1093/annonc/mdl498. Published online: 7 February 2007.
6. European Mortality Database. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark.
7. Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Latvijas Onkoloģijas centra Latvijas vēža slimnieku reģistrs.
8. Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Latvijas Onkoloģijas centrs „Atskaite onkoloģijā – 2000., 2001., 2002., 2003., 2004., 2005., 2006., 2007. gads”.

Summary

Analysis of gastric cancer incidence, mortality, and prevalence is very important for planning of preventive activities. The Latvian Cancer Register data were used for analysis.

Incidence and mortality has a trend of decrease, yet they are considerably higher than the average of the European Union or the European region.

New gastric cancer cases are mostly diagnosed only at stage III or IV. Gastric cancer case fatality during the first year after diagnostics of the disease is second highest only to lung cancer. The 5-year observed survival is the third lowest, after esophagus cancer and lung cancer. The patient contingent or prevalence is increasing; however, it is just the sixth among cancers of other localization.

To improve the situation in Latvia, earlier diagnostics of gastric cancer must be achieved.

Keywords: *gastric cancer, incidence, prevalence, survival, mortality.*

Ievads

Akromegālija nav bieža slimība, taču tās ārstēšana bieži ir komplicēta; tā prasa endokrinologu, neiroķirurgu un staru terapiju sadarbību. Akromegālijas ārstēšanā lieto ķirurģisko, medikamentozo un staru terapiju. Ne vienmēr ir viegli izšķirties starp dažādajiem ārstēšanas veidiem. Akromegālijas sekmīgas ārstēšanas kritēriji ietver bioķīmisko rādītāju augšanas hormona (GH) un insulīnam līdzīgā augšanas faktora – 1 (IGF-1) normalizēšanos, audzēja apjoma kontroli, hipofīzes funkciju saglabāšanu un klīnisko simptomu atvieglošanu. Optimāla akromegālijas ārstēšana ir atkarīga no lietotās ārstēšanas metodes efektivitātes, izmaksām, terapijas panesības, audzēja augšanas kontroles un audzēja masas radītām komplikācijām.

Lai arī ķirurģiska akromegālijas terapija joprojām ir galvenā izvēles metode, tomēr tā ne vienmēr ir iespējama audzēja lieluma vai izplatības un pacienta blakusslimību dēļ. Hipofīzes makroadenomu operāciju iznākumi nav tik labi, un bieži ir sastopami slimības recidīvi. Staru terapijai ir raksturīga lēna ārstnieciskā efekta iestāšanās un liels risks attīstīties hipopituitārismam. Dopamīna agonistu efektivitāte GH-sekretējošu hipofīzes adenomu ārstēšanā pagaidām vēl nav pietiekami liela. Tāpēc somatostatīna analogi (SSA) ir pirmā izvēle GH-sekretējošu hipofīzes adenomu prolongētas augšanas gadījumā, ja operatīva terapija nav iespējama. Šobrīd tiek pētīta SSA kā primārās akromegālijas terapijas iespējas pacientiem, kam ķirurģiskā un/vai staru terapija nav efektīva vai iespējama.

Akromegālijas ārstēšana ar SSA kā metode ir pazīstama jau vairāk nekā 20 gadu. Pasaulē pirmie klīniskie pētījumi par somatostatīna analoga oktreotīda lietošanu akromegālijas ārstēšanā veikti 1984. gadā. Tomēr, lai nodrošinātu efektīvu GH hipersekrēcijas kontroli, oktreotīds bija subkutāni jāievada 2–3 reizes dienā, kas mazināja pacientu līdzestību terapijai. Jaunākās paaudzes ilgas darbības somatostatīna analogu preparāts *octreotide LAR* jāievada vienu reizi divās, četrās vai sešās nedēļās, kas iespējams tāpēc, ka aktīvā zāļu viela ir “iepakota” lēni biodegradējoša materiāla mikrosfērās. Tas ilgākā laika posmā pakāpeniski ļauj somatostatīna analogam nonākt asinīs un saglabāt konstantu koncentrāciju, tādējādi nomācot GH sekrēciju hipofīzē.

Latvijā jaunākās paaudzes somatostatīna analogs *octreotide LAR* (*Sandostatin LAR*) tiek lietots kopš 1998. gada, bet kopš 2003. gada ir ieviesta arī otra somatostatīna analogā – lanreotīda ilgstošas darbības formas *lanreotide SR* un *lanreotide Autogel*. Uzskata, ka dziļi subkutāni vienu reizi mēnesī ievadāmais *lanreotide Autogel* (*Somatulin Autogel*) ir vismaz tikpat efektīvs kā *octreotide LAR*, bet dod mazāk blakņu. Ilgas darbības *depo* somatostatīna analogu ieviešana klīniskajā praksē Latvijā mainīja situāciju citādi neefektīvas terapijas akromegālijas slimnieku ārstēšanā, taču vienlaikus izvirzīja arī problēmu, ko darīt rezistences gadījumā pret somatostatīna analogiem, kāda ir to nozīme akromegālijas preoperatīvā terapijā, kuriem pacientiem somatostatīna analogi būtu nozīmējami kā primārā akromegālijas terapija. Mūsu retrospektīvā pētījuma mērķis bija novērtēt ilgas darbības *depo* somatostatīna analogu terapijas efektivitāti, panesību un blakusslimības akromegālijas slimniekiem.

Pacienti un metodes

SSA kā akromegālijas ārstēšanas medikamentus Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas (PSKUS) Internās medicīnas klīnikas Endokrinoloģijas centrā no 1999. gada marta līdz 2005. gada martam saņēma 17 aktīvas akromegālijas pacienti. Akromegālijas diagnostiskie kritēriji bija slimības klīniskās pazīmes un simptomi, ar vizuālās diagnostikas metodēm (CT, MRI) pierādīts hipofīzes audzējs un GH koncentrācija serumā virs 5,0 ng/ml. SSA efektivitāte tika novērtēta 16 pacientiem (6 vīriešiem un 10 sievietēm), jo vienam pacientam to nebija iespējams izdarīt mazā datu apjoma dēļ (1. tab.). 13 no 16 pacientiem šai laika posmā saņēma ilgstošas darbības oktreotīdu (*Sandostatin LAR Depot*; Novartis Pharma, Bāzele, Šveice) un divi pacienti – ilgstošas darbības lanreotīdu (*Somatulin Autogel*; Ipsen Biotech., Parīze, Francija), un viena paciente – gan *Sandostatin LAR*, gan *Somatulin SR* (*Ipsen Biotech.*, Parīze, Francija).

1. tabula

Ar oktreotīdu un lanreotīdu ārstēto pacientu grupu raksturojums
The main characteristics of patients treated with octreotide and lanreotide

	Oktreotīda grupa	Lanreotīda grupa
Pacientu skaits	14	3
Dzimums (vīrieši/sievietes)	5/9	1/2
Vecums diagnozes noteikšanas brīdī (gadi)	42,1 ± 3,8	52,3 ± 7,8
Vecums SSA terapijas uzsākšanas brīdī (gadi)	46,5 ± 3,6	61,7 ± 3,0
Vidējais ārstēšanas ilgums ar SSA (mēneši)	50 ± 4 mēneši	9 ± 2 mēneši
Hipofīzes adenomas izmēri (mikro/makro)	3/9	1/2
SSA kā primārā terapija (% no kopējā skaita)	43 %	33 %
SSA terapija pēc vienīgi ķirurģiskas ārstēšanas	21 %	66 %
SSA terapija pēc kombinētas ķirurģiskas un radioloģiskas ārstēšanas	36 %	0 %
Dopamīna agonistu pievienošana jebkurai iepriekšējai terapijai	36 %	33 %

Hipofīzes adenomas histoloģiskā forma bija zināma pieciem *Sandostatin LAR* terapijas pacientiem: četriem pacientiem hromofobo šūnu adenoma un vienam pacientam jaukto šūnu adenoma. 14 % (2/14) pacientu bija GH un PRL kosekretējošas hipofīzes adenomas. No astoņiem pacientiem, kam veiktas hipofīzes adenomas operācijas, vienam pacientam veiktas divas operācijas, vienam pacientam veiktas trīs operācijas, vienam pacientam bijusi preoperatīva *Sandostatin LAR* terapija un vienam pacientam operācija veikta *Sandostatin LAR* terapijas laikā. Staru terapija bija bijusi 36 % (5/14) pacientu, pie kam visiem iepriekš bijusi arī ķirurģiskā terapija, trijiem (60 %) tā bijusi *Sandostatin LAR* terapijas laikā. Bromokriptīnu ar vidējo devu 5 mg/dn (2,5–7,5) *Sandostatin LAR* terapijas laikā saņēma 36 % (5/14) akromegālijas slimnieku, no kuriem diviem bija GH un PRL kosekretējošas hipofīzes adenomas. Lanreotīda efektivitāte akromegālijas ārstēšanā tika novērtēta trijiem pacientiem (vienam vīrietim un divām sievietēm), no kuriem divi pacienti saņēma *lanreotide Autogel* (*Somatulin Autogel* 60 mg 1 x 4 ned. s/c) un vienam pacientam nomainīts *Sandostatin LAR* ar *lanreotide SR* (*Somatulin SR* 30 mg 1 x 2 ned. i/m).

Datu apstrāde

Dati par akromegālijas slimniekiem, kuri saņēma somatostatīna analogus, iegūti no ambulatorajām kartēm Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Internās medicīnas klīnikas Endokrinoloģijas centrā un no slimnīcas arhīvā esošajām pacientu slimības vēsturēm. Tie apkopoti saskaņā ar īpaši izveidotu anketu, kā arī intervējot 50 % (8/16) pacientu, lai izvērtētu medikamentu klīnisko efektivitāti un blaknes. GH koncentrācija serumā pacientiem tika novērtēta, uzsākot somatostatīna analogu terapiju, pēc 12 mēnešiem un novērojamā perioda beigās. IGF-1 koncentrācija serumā tika novērtēta novērojamā perioda beigās. Pieejamie vizuālās diagnostikas dati (CT vai MRI apraksti) tika novērtēti dinamikā. Rezultāti tika izteikti kā [vidējais aritmētiskais ± vidējā aritmētiskā reprezentācijas kļūda] ($mean \pm SEM$); divu vidējo aritmētisko salīdzināšanai tika lietots *t*-tests, pieņemot $P < 0,05$ kā statistiski būtiski atšķirīgu. [12]

Kā bioķīmiskie akromegālijas slimnieka izārstēšanās (“*biochemical cure*”) kritēriji tika pieņemti (1) bazālā GH koncentrācija $< 2,0$ ng/l, (2) zemākā GH koncentrācija orālās glikozes tolerances testa laikā divas stundas pēc 75 g glikozes uzņemšanas serumā $< 1,0$ ng/l, (3) IGF-1 koncentrācijas serumā normalizācija. Bazālo GH koncentrāciju serumā $< 5,0$ ng/l (t. i., laboratorisko normu) akromegālijas slimniekam nevar uzskatīt par slimības bioķīmisko izārstēšanos.

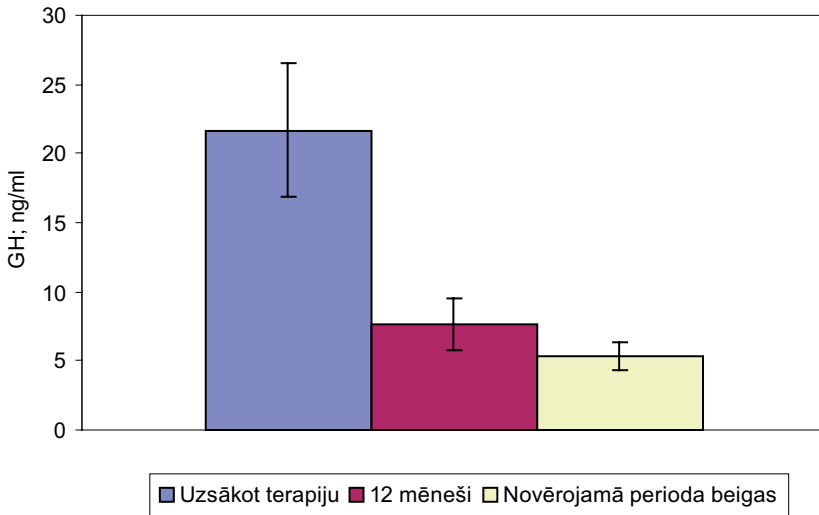
Pacientiem, kuriem pēc vizuālās diagnostikas datiem (CT un MRI aprakstiem) bija noteikti attiecīgie hipofīzes adenomu izmēri, lai precīzāk (pārējiem novērtējums aprakstoši) novērtētu tumora apjoma izmaiņas *Sandostatin LAR* terapijas laikā, tika aprēķināts tā tilpums (kā rotējošam elipsoīdam) pēc šādas formulas (*Di Chiro and Nelson, 1962*): $\pi/6 \times (V \times AP \times T)$, kur V ir tumora maksimālais vertikālais izmērs koronārā plāksnē, AP ir maksimālais *anterior-posterior* izmērs aksiālā plāksnē un T ir maksimālais transversālais jeb *latero-laterālais* izmērs aksiālā plāksnē. [3]

Rezultāti

Pēc 12 mēnešu *Sandostatin LAR* terapijas vidējā GH koncentrācija serumā statistiski ticami samazinājās par 53% (1. att.), salīdzinot ar sākotnējo GH koncentrāciju serumā ($21,7 \pm 4,8$ ng/ml vs $7,7 \pm 1,8$ ng/ml, $P=0,01$). Pētījuma beigās vidējā GH koncentrācija serumā bija samazinājusies par 64%, salīdzinot ar sākotnējo GH koncentrāciju serumā ($21,7 \pm 4,8$ ng/ml vs $5,4 \pm 1,0$ ng/ml, $P=0,002$), tomēr netika novērota statistiski nozīmīga atšķirība GH koncentrācijas serumā samazinājumā pēc 12 mēnešu *Sandostatin LAR* terapijas un novērojamā perioda beigās ($7,7 \pm 1,8$ ng/ml vs $5,4 \pm 1,0$ ng/ml).

Pēc 12 mēnešu *Sandostatin LAR* terapijas bazālā GH koncentrācija serumā $< 5,0$ ng/ml bija 43 % pacientu, bet novērojamā perioda beigās – 57 % pacientu, tomēr terapijas mērķis atbilstoši vadlīnijām (bazālā GH koncentrācija serumā $< 2,0$ ng/l) pēc 12 mēnešu ilgas terapijas tika sasniegts 14 % pacientu, bet novērojamā perioda beigās – 21 % pacientu. Novērojamā perioda beigās orālās glikozes tolerances testa laikā divas stundas pēc 75 g glikozes uzņemšanas GH koncentrācija serumā $< 1,0$ ng/ml bija 14 % pacientu. IGF-1 koncentrācija serumā tika noteikta astoņiem pacientiem, vecumam un dzimumam atbilstošās normas robežās novērojamā

perioda beigu posmā IGF-1 bija 38 % pacientu. Visi mērķa lielumi, t. i., bazālā GH koncentrācija serumā $<2,0$ ng/ml, orālās glikozes tolerances testa laikā divas stundas pēc 75 g glikozes uzņemšanas, GH koncentrācija serumā $<1,0$ ng/ml un vecumam un dzimumam atbilstošā IGF-1 koncentrācijas serumā normalizēšanās, tika novērota tikai vienam pacientam.



1. attēls. Sandostatin LAR terapijas pacientu vidējā GH koncentrācija serumā pirms ārstēšanas, pēc 12 mēnešiem un novērojamā perioda beigās

Figure 1. The mean concentration of serum GH before treatment, after 12 months of treatment with Sandostatin LAR and at the end of the study

Statistiski nozīmīgi primārās un adjuvantās Sandostatin LAR terapijas grupās neatšķirās vidējā GH koncentrācija serumā, uzsākot terapiju (attiecīgi $25,0 \pm 9,7$ ng/ml vs $19,3 \pm 5,0$ ng/ml), pēc 12 mēnešu Sandostatin LAR terapijas (attiecīgi $6,9 \pm 2,6$ ng/ml vs $8,0 \pm 2,7$ ng/ml) un novērojamā perioda beigās (attiecīgi $6,2 \pm 1,8$ ng/ml vs $4,4 \pm 1,2$ ng/ml). Mazā pacientu skaita dēļ statistiskās ticamības līmeni ($p < 0,05$) izdevās sasniegt vienīgi GH koncentrācijas samazinājumam visa pētījuma garumā adjuvantās SSA terapijas grupā. Sandostatin LAR terapijas pacientu grupā (N=5), kuri paralēli saņēma bromokriptīnu, un pacientu grupā, kas paralēli Sandostatin LAR terapijai nesaņēma bromokriptīnu (N=9), vidējā GH koncentrācija serumā statistiskās ticamības līmeni sasniedza vienīgi novērojamā perioda beigās (2. tabula).

Hipofīzes adenomu invazivitāti Sandostatin LAR terapijas laikā pēc CT un MRI datiem bija iespējams noteikt 93 % pacientu, bet 79 % pacientu bija iespējams pēc CT un MRI datiem novērtēt aprakstoši **hipofīzes adenomu apjoma izmaiņas** dinamikā Sandostatin LAR terapijas laikā. 36 % pacientu bija iespējams procentuāli novērtēt hipofīzes adenomas (visas bija makroadenomas) apjoma izmaiņas dinamikā Sandostatin LAR terapijas laikā.

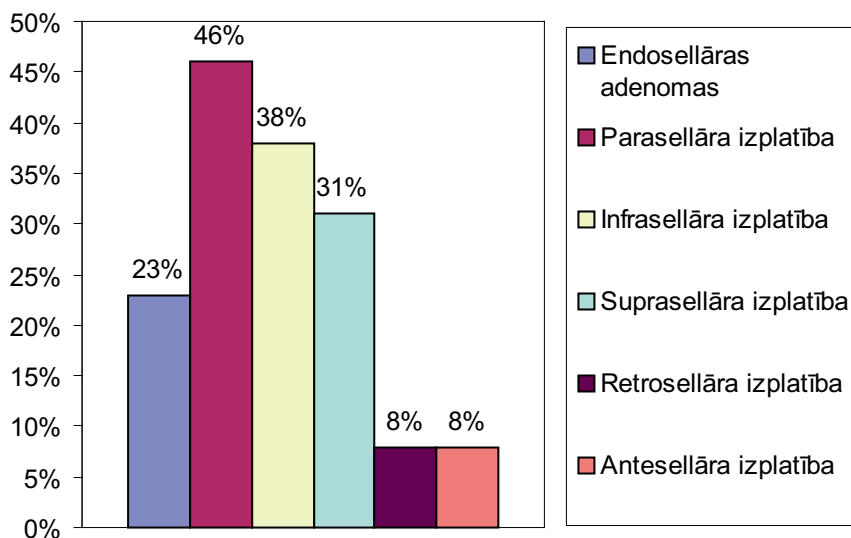
2. tabula

GH koncentrācijas izmaiņas serumā Sandostatīn LAR terapijas pacientiem, kas to saņēma kā primāro un sekundāro terapiju, ar vai bez kombinēšanas ar bromokriptīnu
Serum GH concentration changes in patients receiving Sandostatīn LAR as primary treatment and as secondary treatment, and with or without combination with bromocriptin

	Pacientu skaits	Seruma GH terapijas sākumā (ng/ml)	Seruma GH pēc 12 mēnešu terapijas (ng/ml)	Seruma GH pētījuma beigās (ng/ml)
Primārās SSA terapijas grupa	6	25,0 ± 9,7	6,9 ± 2,6	6,2 ± 1,8
Adjuvantās SSA terapijas grupa	8	19,3 ± 5,0	8,0 ± 2,7	4,4 ± 1,2 (*)
SSA terapija kombinācijā ar bromokriptīnu	5	23,8 ± 6,8	9,7 ± 3,6	6,4 ± 1,6 (*)
SSA terapijas grupa bez kombinēšanas ar bromokriptīnu	9	20,5 ± 6,7	6,5 ± 2,1	4,8 ± 1,3 (*)

* Statistiski ticamas izmaiņas pret sākotnējo seruma GH.

* Statistically significant changes from the initial serum GH.



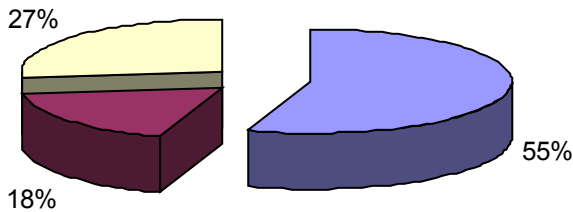
2. attēls. Sandostatīn LAR terapijas pacientu hipofīzes adenomu invazīvitatē raksturojums

Figure 2. Invasiveness of pituitary adenomas in patients receiving Sandostatīn LAR

23 % pacientu bija endosellāras hipofīzes adenomas bez izplatības ārpus *sella turcica*, no tām divas bija mikroadenomas un viena – makroadenoma. Hipofīzes adenomas izplatību vienā virzienā novēroja 23 % pacientiem, izplatību divos virzienos novēroja 31 % pacientu, izplatību trijos virzienos novēroja vienam pacientam (8 %), bet vienam pacientam (8 %) novēroja hipofīzes adenomas izplatību visos astoņos virzienos (ieskaitot abpusēji parasellāru izplatību). Suprasellāru izplatību novēroja

31 % hipofīzes adenomu, infrasellāru izplatību 38 % hipofīzes adenomu, parasellāru izplatību 46 % hipofīzes adenomu, retrosellāru izplatību 8 % hipofīzes adenomu, antesellāru izplatību 8 % hipofīzes adenomu (2. att.).

Pēc CT un MRI datiem, *Sandostatin LAR* terapijas laikā hipofīzes adenomas apjomā būtiski (>10 %) nemainījās 55 % pacientiem. Tikai vienam no šiem pacientiem *Sandostatin LAR* bija kā akromegālijas primārā terapija, vienam pacientam anamnēzē bija transsfenoidāla hipofīzes adenomas operācija, vienam pacientam anamnēzē bija transkraniāla hipofīzes adenomas operācija, diviem pacientiem bija bijusi transsfenoidāla hipofīzes adenomas operācija un staru terapija, kā arī paralēli *Sandostatin LAR* viņi saņēma bromokriptīnu, un vienam pacientam bijusi transkraniāla operācija un staru terapija. Hipofīzes adenomas apjoms *Sandostatin LAR* terapijas laikā būtiski palielinājās 18 % pacientiem, kuriem anamnēzē bija bijušas transkraniālas hipofīzes adenomas operācijas un staru terapija, pie kam vienam pacientam paralēli *Sandostatin LAR* terapijai bija bromokriptīns. Adenomas apjoms būtiski samazinājās 27 % pacientu. Diviem pacientiem *Sandostatin LAR* bija kā primārā akromegālijas terapija, un vienam pacientam anamnēzē bija transsfenoidāla hipofīzes adenomas operācija un viņš paralēli *Sandostatin LAR* saņēma bromokriptīnu (3. att.).



3. attēls. *Sandostatin LAR* pacientu hipofīzes adenomu apjoma izmaiņas dinamikā – 27 % būtiski samazinās, 18 % – būtiski palielinās, bet 55 % pacientu hipofīzes adenomas apjoms būtiski nemainās

Figure 3. Changes in the volume of pituitary adenomas in patients treated with *Sandostatin LAR*, 27% – decrease, 18% – increase, 55% – no change

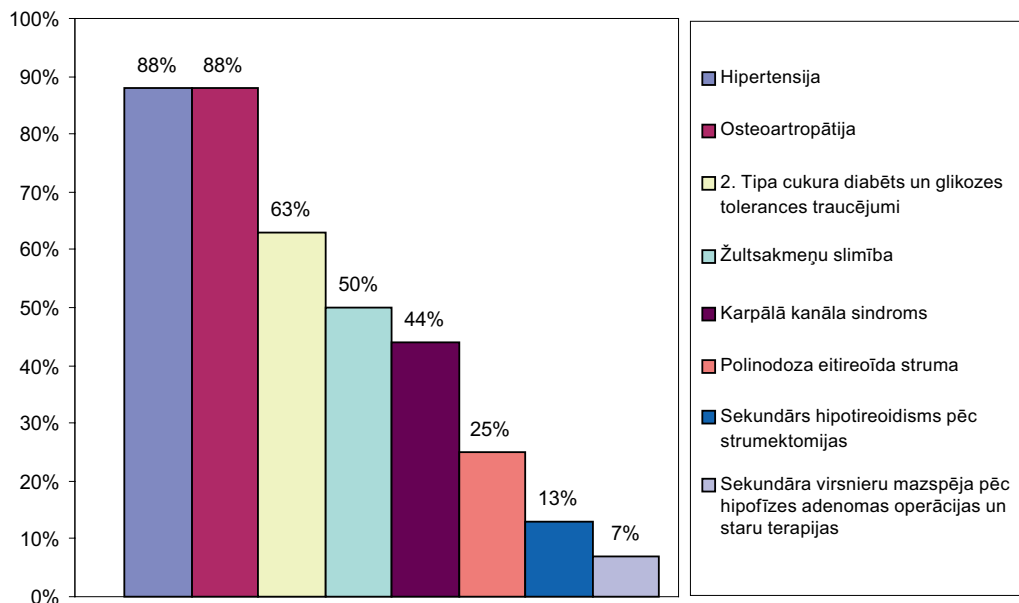
Tikai pieciem pacientiem tika izrēķināts hipofīzes adenomas tilpums. Diviem pacientiem (abiem *Sandostatin LAR* kā akromegālijas primārā terapija) tas būtiski (>10 %) samazinājās, bet vienam pacientam tas būtiski pieauga (*Sandostatin LAR* kā adjuvantā terapija pēc operācijas). Diviem pacientiem (*Sandostatin LAR* pēc transsfenoidālas hipofīzes adenomas operācijas un staru terapijas (viens pacients saņēma arī bromokriptīnu)) hipofīzes adenomas būtiskas izmaiņas nenovēroja.

Pēc sešu mēnešu **lanreotīda** (*lanreotide SR*, *lanreotide Autogel*) terapijas vidējā GH koncentrācija serumā palielinājās par 5%, salīdzinot ar sākotnējo GH koncentrāciju serumā ($13,1 \pm 3,4$ ng/ml uzsākot lanreotīda terapiju vs $15,3 \pm 10,6$ ng/ml pēc sešu mēnešu lanreotīda terapijas), taču iegūtie rezultāti mazā pacientu skaita dēļ nav statistiski ticami. Taču, izslēdzot pret SSA terapiju rezistentu pacientu, kas saņēma vispirms oktreotīdu, pēc tam *lanreotide SR*, pēc sešu mēnešu *lanreotide Autogel* terapijas vidējā GH koncentrācija serumā samazinājās par 50 %, salīdzinot

ar sākotnējo GH koncentrāciju serumā ($9,8 \pm 1,2$ ng/ml, uzsākot lanreotīda terapiju, vs $4,7 \pm 1,1$ ng/ml pēc sešu mēnešu terapijas), taču arī šie rezultāti nav statistiski ticami, jo pārāk mazs ir pacientu skaits ($N=2$), lai varētu izdarīt secinājumus.

Akromegālijas slimnieku pavadošās un blakusslimības

44 % akromegālijas pacientu, kas saņēmuši SSA, bija žultsakmeņu slimība, bet vienai pacientei – nosēsts (“sludge”). 2. tipa cukura diabēts bija 38 % pacientu, bet glikozes tolerances traucējumus novēroja 25 % pacientu. Arteriālā hipertensija bija 88 % pacientu. Osteoartropātija bija 88 % pacientu, bet karpālā kanāla sindroms – 44 % pacientu. 25 % pacientu bija nodoza eitireoīda struma, bet 13 % bija sekundāra hipotireoze pēc strumektomijas. Vienai pacientei bija hroniska virsnieru nepietiekamība pēc hipofīzes adenomas operācijas un staru terapijas. Vienai pacientei bija policistisks olnīcu sindroms (4. att.).



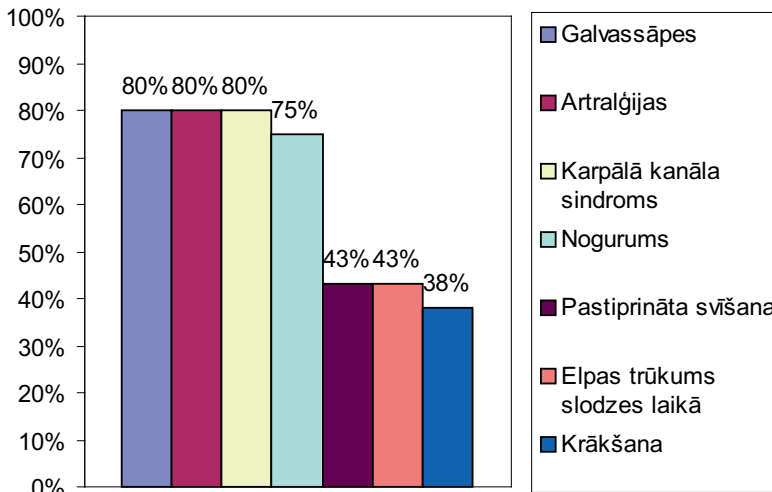
4. attēls. Akromegālijas slimnieku, kuri saņem somatostatīna analogus, pavadošās un blakusslimības

Figure 4. Diseases associated with the SSA treatment

Dzemes miomas bija četrām pacientēm (40 %), endometrija polipi – divām pacientēm, olnīcu cista – vienai pacientei. Resnās zarnas polipi bija diviem pacientiem, cistas nierēs – diviem pacientiem, žultspūšļa polipoze, virsnieru adenoma, meningeoma, nieru hemangioma – pa vienam pacientam.

Somatostatīna analogu blaknes novērtētas, intervējot 50 % akromegālijas pacientu, kas saņēma SSA terapiju (5. att.). Izteiktu nogurumu kā akromegālijas klīnisko simptomu atzīmēja 75 % no aptaujātajiem pacientiem; pēc SSA terapijas tas bija mazinājies 75 % pacientu. Galvassāpes atzīmēja 63 % no aptaujātajiem

pacientiem; pēc SSA terapijas uzsākšanas tās bija mazinājušās 80 % pacientu. Diplopija bija vienam pacientam pirms SSA terapijas uzsākšanas, un tā terapijas ietekmē mazinājās. Elpas trūkumu slodzes laikā, noejot 500 m 6 minūšu laikā vai uzkāpjot otrajā stāvā, atzīmēja 63 % no aptaujātajiem pacientiem; pēc SSA terapijas elpas trūkums slodzes laikā mazinājās 40 % pacientu. Pastiprinātu svīšanu atzīmēja 88 % no aptaujātajiem pacientiem; pēc SSA uzsākšanas tā bija mazinājusies 43 % pacientu. Artralģijas atzīmēja 63 % no aptaujātajiem pacientiem; pēc SSA terapijas uzsākšanas tās bija mazinājušās 80 % pacientu. Karpālā kanāla sindromu atzīmēja 63 % no aptaujātajiem pacientiem; pēc SSA terapijas uzsākšanas tas mazinājās 80 % pacientu. Miega traucējumus (krākšanu/gulēšanu dienā) atzīmēja 100 % pacientu; pēc SSA terapijas uzsākšanas tā bija mazinājusies 38 % pacientu. Menstruālā cikla traucējumus atzīmēja 33 % aptaujāto pacienšu (viena paralēli SST analogu terapijai saņēma bromokriptīnu); pēc SSA terapijas uzsākšanas menstruālā cikla traucējumi visām bija izzuduši.



5. attēls. Somatostatīna analogu efektivitāte klīnisko simptomu mazināšanā akromegālijas slimniekiem

Figure 5. Decrease of clinical symptoms of acromegaly during the treatment with SSA

Kā SSA terapijas blakni pārejošu caureju, kas ārstēšanās laikā mazinājusies, atzīmēja 25 % aptaujāto pacientu; aholiskas vai gaišākas nokrāsas fēces, uzsākot SSA terapiju, atzīmēja 25 % aptaujāto pacientu. Sliktu dūšu, vemšanu kā SSA terapijas blakni neatzīmēja neviens pacients. Vienam pacientam, uzsākot SSA terapiju, bija diskomforta/sāpju sajūta vēderā, kas terapijas laikā izzuda. Diskomforta/sāpju epizodes labajā parībā pirms SSA terapijas uzsākšanas atzīmēja viens no aptaujātajiem pacientiem; pēc SSA terapijas uzsākšanas diskomforta/sāpju epizodes labajā parībā atzīmēja 38 % no aptaujātajiem pacientiem. Apstiprināta (ultrasonogrāfiski) žultsakmeņu slimība pirms SSA terapijas uzsākšanas bija 25 % pacientu; pēc SSA terapijas apstiprināta žultsakmeņu slimība bija 50 % aptaujāto pacientu. Flatulence pirms SSA terapijas uzsākšanas bija vienam no aptaujātajiem

pacienti, bet pēc SSA terapijas uzsākšanas – diviem no aptaujātajiem pacientiem. Sāpes SSA injekcijas vietā atzīmēja divi no aptaujātajiem pacientiem.

Diskusija

Pētījuma mērķis bija retrospektīvi novērtēt ilgas darbības SSA – oktreatīda un lanreatīda – efektivitāti akromegālijas ārstēšanā pacientiem, kas ambulatori ārstējušies Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Endokrinoloģijas centrā. SSA klīniskā efektivitāte un blaknes tika novērtētas, veicot pacientu interviju. Tā kā daudzi pacienti ārstējās jau vairākus gadus, tad dažkārt precīzi noteiktas atbildes uz dažiem jautājumiem nebija gūstamas.

Vairums pacientu ilgāku laiku bija saņēmuši *octreotide LAR* (*Sandostatin LAR Depot*), tāpēc ticams vērtējums bija iegūstams par šī medikamenta bioķīmisko un klīnisko efektivitāti. Tā kā Latvijā *depo* lanreatīda preparāti parādījušies samērā nesen, to efektivitāte mazā pacientu skaita dēļ nebija novērtējama, taču pēc *lanreotide Autogel* sešu mēnešu ārstēšanas rezultātiem diviem pacientiem subjektīvi (jo rezultāti, protams, šai gadījumā nav statistiski salīdzināmi ar *octreotide LAR*) šķiet, ka tas varētu būt pat efektīvāks par *Octreotide LAR*, jo efektīvi mazina simptomus un augšanas hormona līmeni asinīs, lai gan vienai pacientei profūzo caureju dēļ *lanreotide Autogel* tika nomainīts uz *octreotide LAR*. *Lanreotide SR* (*Somatulin SR*) klīniskajā praksē nav ieviesies, tas jānīcē vismaz vienu reizi divās nedēļās.

Somatostatīna analogu terapija ir dārga ārstēšanas metode, tāpēc neizbēgami izvirzās problēma, kuriem pacientiem tā ir piemērota [10, 18]. Tāpat aktuāla ir arī preoperatīvās somatostatīna analogu terapijas problēma [1, 6, 26], kā arī dažādu akromegālijas ārstēšanas metožu, tai skaitā jaunās ķirurģiskās metodes (endoskopija, neironavigācija u. c.) un staru terapijas (lineārie paātrinātāji, protonu kūļa, γ -knife), kā arī augšanas hormona receptoru antagonista pegvisomanta lietderība akromegālijas ārstēšanā. Būtiska ir arī SSA rezistences problēma akromegālijas pacientiem [7, 17], tās mehānismi un iespējas to pārvarēt.

Kopumā pieņemam, ka mūsdienīgi bioķīmiskie akromegālijas slimnieka izārstēšanās (“*biochemical cure*”) kritēriji ir (1) bazālā GH koncentrācija <2,0 ng/l, (2) zemākā GH koncentrācija serumā orālās glikozes tolerances testa laikā pēc 75 g glikozes uzņemšanas <1,0 ng/l, (3) normāla IGF-1 koncentrācija serumā. Bazālo GH koncentrāciju serumā <5,0 ng/l (t. i., laboratorisko normu) akromegālijas slimniekam nevar uzskatīt par slimības bioķīmisko izārstēšanos.

PSKUS ar *Sandostatin LAR* ārstētajiem aktīvas akromegālijas slimniekiem šos kritērijus ilgtermiņā sasniedza tikai viena paciente (7 %), turklāt viņai jau pirms terapijas uzsākšanas bija spontāna hipofīzes adenomas autolīze. IGF-1 koncentrācijas serumā normalizāciju *Sandostatin LAR* terapijas laikā novēroja 38 % no pacientiem, kuriem tas bija noteikts. GH koncentrāciju serumā <2,0 ng/ml novēroja 14 % pacientu pēc 12 mēnešu terapijas un 21 % pacientu ilgtermiņā. GH koncentrāciju serumā <1,0 ng/ml pēc OGTT novēroja 14 % pacientu novērojamā perioda beigās.

Literatūras dati liecina, ka *octreotide LAR* (*Sandostatin LAR*) GH koncentrāciju serumā <2,5 ng/ml pēc 12 mēnešu terapijas nodrošina 69,8 % akromegālijas pacientu (N=151) [24], PSKUS pēc 12 mēnešu *Sandostatin LAR* terapijas GH

koncentrācija serumā $<2,5$ ng/ml bija 21 % (3/14) un ilgtermiņā novērojamā perioda beigās – 36 % (5/14). Taču Eiropas multicentru pētījumā par *Sandostatin LAR* efektivitāti akromegālijas ārstēšanā [15] tika iekļauti tikai tie pacienti, kuri iepriekš bijuši jutīgi pret *octreotide s. c.*, t. i., bija izslēgti pret terapiju rezistentie pacienti, tādējādi parādot *Sandostatin LAR* maksimālo efektivitāti (tuvu 70 %) akromegālijas ārstēšanā. Latvijā PSKUS *Sandostatin LAR* tiek nozīmēts pacientiem, kuriem citas ārstēšanas iespējas ir izsmeltas un SSA terapija palikusi kā pēdējā efektīvā iespēja mazināt GH koncentrāciju asinīs un klīniskos simptomus. Tādējādi savā ziņā Latvijā medikamenta augsto izmaksu dēļ SSA terapijas “mērķauditorija” ir uz citiem terapijas veidiem (atkārtotas operācijas un staru terapija, bromokriptīns) nereaģējoši akromegālijas pacienti ar prolongētu hipofīzes adenomas augšanu vai plašu izplatību, kad operatīva terapija vairs nav iespējama, kas arī nosaka SST analoģu terapijas nelielo efektivitāti.

Citā nelielā pētījumā [4], kas aptvēra 22 aktīvas akromegālijas pacientus, kuri ārstēti ar SSA (18 pacienti ārstēti ar *Sandostatin LAR* un 4 pacienti ar *lanreotide LA*), GH koncentrācija serumā $<2,0$ $\mu\text{g/l}$ pēc 12 mēnešu ilgas somatostatīna analoģu terapijas bija 46 % pacientu un 36 % pacientu novērojamā perioda beigās. 52 % pacientu IGF-1 bija normalizējies pēc 12 mēnešu ilgas ārstēšanās un 67 % pacientu – novērojamā perioda beigās. Redzams, ka tomēr PSKUS *Sandostatin LAR* terapijas efektivitāte akromegālijas pacientiem ir uz pusi zemāka nekā augstāk minētajā pētījumā, kas pacientu skaita, vecuma, iepriekšējās terapijas, SSA terapijas ilguma ziņā ir salīdzināms ar PSKUS ārstētajiem akromegālijas slimniekiem. Acīmredzot, ir kādi citi faktori, kas ietekmē *Sandostatin LAR* terapijas efektivitāti PKUS; tie, kā jau iepriekš minēts, jāmeklē pacientu atlasē, jo Latvijā objektīvu iemeslu dēļ (finanšu resursi) ne visiem, kam būtu indicēta SSA terapija (arī kā primārā akromegālijas terapija, ja pacients nevēlas operāciju un/vai staru terapiju), ir iespējas to saņemt. Līdz ar to pacienti, kuriem SSA terapija varētu būt efektīva, to nesaņem, tādējādi netiešā veidā ietekmējot kopējos SSA terapijas rezultātus.

PSKUS starp *Sandostatin LAR* terapijas pacientiem, kuri to saņēmuši kā primāro akromegālijas terapiju, un tiem, kuri saņēmuši kā sekundāro jeb adjuvanto terapiju pēc operācijas un/vai staru terapijas, nenovēro statistiski nozīmīgu atšķirību GH koncentrācijas serumā samazināšanās ziņā pēc 12 mēnešu terapijas un ilgākā laika posmā novērojamā perioda beigās. Tāpat nenovēroja statistiski nozīmīgu atšķirību izejas GH līmenī serumā, uzsākot SST analoģu terapiju. Tas sakrīt ar literatūras datiem [5], kur secināts, ka *Sandostatin LAR* ir vienlīdz efektīvs gan kā primārā akromegālijas terapija, gan kā sekundārā akromegālijas terapija pēc ķirurģiskas un/vai staru terapijas. Var secināt, ka *Sandostatin LAR* ir izvēles terapija akromegālijas pacientiem, kuriem ķirurģiskā terapija nav iespējama, kas arī sakrīt ar literatūras datiem [5, 7, 14].

PSKUS ar SSA ārstētajiem pacientiem kopumā bija veiktas 11 hipofīzes adenomas operācijas, no kurām tikai četras bija ar transsfenoidālu pieeju. Tas skaidrojams ar to, ka audzēja lieluma un izplatības dēļ nebija iespējams veikt hipofīzes adenomas transsfenoidālu ekstirpāciju vai rezekciju. Literatūras dati liecina, ka pēc ar transkraniālu pieeju veiktām hipofīzes adenomas operācijām piektdaļā gadījumu rodas recidīvi, bet ar transsfenoidālu pieeju veikto operāciju gadījumā recidīvi ir reti [9, 23]. Tomēr literatūras dati liecina, ka operatīvajai terapijai arī invazīvu hipofīzes

adenomu ārstēšanā ir labvēlīgs efekts uz pēcooperatīvas (sekundāras) SSA terapijas rezultātiem [25].

Lielais transkraniāli veikto operāciju skaits pacientiem, kuri PSKUS saņēma *Sandostatin LAR*, varētu liecināt par lielu invazīvu hipofīzes adenomu skaitu starp šiem pacientiem (par ko arī liecina vizuālās diagnostikas dati – endosellāras adenomas ir tikai 23 % pacientu), kas arī varētu ietekmēt SSA terapijas vēlīnos rezultātus.

PSKUS pacientiem, kuri saņēma *Sandostatin LAR*, novēroja izteiktu hipofīzes adenomu invazivitāti – tās visbiežāk izplatījās suprasellāri, ietekmējot redzes ceļu, parasellāri uz kavernozažiem sinusiem un infrasellāri sfenoidālajā dobumā. Antesellāru hipofīzes adenomas izplatību uz etmoidālām šūnām un retrosellāru izplatību ar *clivus* destrukciju novēroja atsevišķā gadījumā. Literatūras dati liecina, ka hipofīzes adenomu invazivitāte ir atkarīga no audzēja lieluma [27], kas tika novērots arī PSKUS ar *Sandostatin LAR* ārstētajiem pacientiem. Endosellāras hipofīzes adenomas divos gadījumos no trim bija mikroadenomas. Invazīvas bija pārējās makroadenomas un tikai viena mikroadenoma. Par PSKUS ar *Sandostatin LAR* ārstēto hipofīzes adenomu histoloģisko formu nozīmi uz SSA terapijas rezultātiem nevar izteikties, jo tā ir zināma tikai daļai pacientu, un lielākajai daļai no tiem tā ir hromofobo šūnu adenoma.

MRI un CT dati grūti interpretējami, jo bieži dažādu radiologu izmeklējumu aprakstos ir dots hipofīzes adenomu apjoma subjektīvs salīdzinošs izvērtējums dinamikā, netiek norādīti visi nepieciešamie tumora izmēri, lai precīzi varētu spriest par tā apjoma izmaiņām terapijas laikā. Kopumā var secināt, ka *Sandostatin LAR* terapijas laikā 55 % pacientu hipofīzes adenomas izmērs būtiski nav palielinājies, 18 % pacientu tas ir būtiski palielinājies, bet 27 % pacientu – būtiski samazinājies. Kopumā, pacientiem, kuriem bija precīzi iespējams novērtēt audzēja izmērus dinamikā *Sandostatin LAR* terapijas laikā (pieci pacienti ar hipofīzes makroademomu), hipofīzes adenomu vidējais tilpums pēc 21 ± 5 mēnešu (12 – 38 mēnešu) terapijas samazinājās par 17,9%, bet vidējā GH koncentrācija serumā šai laika posmā pieauga par 23,3 %. Lai arī diskordanta atšķirība starp audzēja tilpuma samazināšanos un augšanas hormona līmeņa asinīs pieaugumu nav statistiski ticama ($P=0,094$), tomēr rezultāti uzrāda tendenci, ka audzēja apjoma samazināšanās nekorelē ar augšanas hormona līmeni asinīs, t. i., ne vienmēr gadījumā, kad novēro audzēja samazināšanos apjomā, paralēli novēro GH hipersekrēcijas samazināšanos, tieši pretēji – var būt arī GH koncentrācijas pieaugums asinīs. Iegūtos rezultātus apstiprina arī literatūras dati [3].

Literatūras dati liecina, ka SSA terapijas ietekmē apjomā ievērojamāk samazinās makroadenomu izmēri, bet GH hipersekrēcijas kontrole ir efektīvāka pacientiem ar mikroadenomām [3]. Tamlīdzīgus secinājumus par *Sandostatin LAR* terapiju PSKUS nav iespējams izdarīt, jo tikai 3 no 14 pacientiem bija hipofīzes mikroadenomas, bet pārējiem bija hipofīzes makroadenomas. Kopumā literatūras dati [3, 6, 7] uzrāda ievērojamāku hipofīzes apjoma samazināšanos SSA terapijas rezultātā, taču metaanalīzes rezultāti par hipofīzes audzēju izmēru samazināšanos SSA terapijas ietekmē [19] liecina, ka vidēji hipofīzes adenomu apjoms samazinās 36,2 % par vidēji 19,4 %, kas būtībā saskan ar rezultātiem, kādi sasniegti PSKUS Endokrinoloģijas centrā, ārstējot akromegālijas slimniekus ar *Sandostatin LAR*.

PSKUS ar *Sandostatin LAR* ārstētajiem pacientiem nenovēroja atšķirību GH līmeņa serumā samazinājumā pacientiem, kuri saņēma bromokriptīnu vidējā devā 5 mg/dn. (N=5; divām pacientēm bija GH un PRL kosekretējošas hipofīzes adenomas), salīdzinot ar tiem, kuri dopamīna agonistu nesaņēma (N=9), taču pacientēm ar GH un PRL kosekretējošām adenomām novēroja PRL līmeņa serumā normalizēšanos. Taču stingrus secinājumus par bromokriptīna efektivitāti akromegālijas ārstēšanā nevar izdarīt, jo šis nav *placebo* kontrolēts pētījums, un bromokriptīnu PSKUS saņēma tie pacienti, kuriem bija paaugstināts PRL līmenis vai GH hipersekrēcijas kontrole nebija pietiekama ar *Sandostatin LAR*, t. i., nav zināms, kāds būtu GH līmenis serumā, ja pacienti bromokriptīnu nesaņemtu. Taču arī literatūras dati liecina, ka bromokriptīna pievienošana nelielās devās tikai 10–20 % GH-sekretējošu adenomu gadījumā panāk GH koncentrācijas serumā samazināšanos. Labāku efektu var panākt ar lielām bromokriptīna devām (> 20 mg/dn.), taču tas saistīts ar ievērojamu blakņu pieaugumu [7, 10, 22, 26, 30].

Pacientiem ar akromegāliju ir paaugstināts risks saslimt ar ļaundabīgiem un labdabīgiem jaunveidojumiem, ko skaidro ar IGF-1 paaugstināšanos akromegālijas pacientiem [11]. Arī PSKUS ar somatostatīna analogiem ārstētajiem pacientiem novēro dažādus labdabīgus jaunveidojumus – resnās zarnas, žultspūšļa, endometrija polipus, cistas nierēs un olnīcās, sevišķi bieži (40 % pacienšu) dzemdes miomas. Šie jaunveidojumi prasa radikālu terapiju (endometrija polipu gadījumā tiek veiktas dzemdes dobuma abraziņas, resnās zarnas polipu gadījumā – polipektomija) vai regulāru novērošanu (kolonoskopija, ultrasonogrāfija). Interesanti, ka vienam pacientam akromegālija diagnosticēta, griežoties pie ārsta sakarā ar polīpiem aizdegunē. Vienai pacientei bez hipofīzes adenomas ir arī otrs smadzeņu audzējs – meningeoma (operēts), kā arī abpusējas virsnieru adenomas.

Akromegālijas pacientiem bieži ir traucēta glikozes vielmaiņa [16], jo GH ir kontrinsulārs hormons; ne vienmēr skaidri var zināt, kādas novirzes glikozes vielmaiņas mehānismos izraisīs somatostatīna analogu terapija. Somatostatīna analogu terapija *per se* var izraisīt gan hipoglikēmiju (reti), gan hiperglikēmiju (bieži, 15 % gadījumu), bet medikamentu veicinātu diabētu tomēr novēro reti [10], jo SST analogiem bez GH sekrēcijas nomācošās darbības piemīt arī glikagona un insulīna sekrēciju nomācoša darbība, ko saista ar somatostatīna dažādo receptoru veidu izvietojumu audos un orgānos [2, 24, 30]. Pasaulē tiek radīti jauna veida somatostatīna analogi, kuri mazāk ietekmētu glikozes metabolismu un kuriem būtu vēl izteiktāka afinitāte pret tieši hipofīzē lokalizētajiem somatostatīna receptoriem [2, 28]. Nelielā pētījumā [4], kas aptvēra 22 aktīvas akromegālijas pacientus, kurus ārstēja ar ilgas darbības *depo* somatostatīna analogiem, glikozes tolerances traucējumi attīstījās trijiem (14 %) pacientiem, bet cukura diabēts vienam (5 %) pacientam. Eiropas multicentru pētījumā [15] par 12 mēnešu *Sandostatin LAR* efektivitāti, kas aptvēra 151 akromegālijas pacientu, cukura diabēta vai glikozes tolerances traucējumu manifestēšanos *Sandostatin LAR* terapijas laikā nenovēroja nevienam pacientam; taču jāņem vērā, ka šeit bija iekļauti jau iepriekš *octreotide s.c.* saņēmušie pacienti, kam šie glikozes metabolisma traucējumi varētu būt attīstījušies jau iepriekšējās terapijas laikā, līdz ar to varētu secināt, ka *octreotide LAR* (*Sandostatin LAR*) nepalielina cukura diabēta vai glikozes tolerances traucējumu rašanās risku pacientiem, kas iepriekš ārstēti ar *octreotide s.c.*

PSKUS ar SSA ārstētajiem akromegālijas pacientiem glikozes tolerances traucējumus un cukura diabētu novēroja 63 % pacientu (10/16), taču nav skaidrs, vai glikozes vielmaiņas traucējumu cēlonis ir pati slimība (akromegālija), vai tās terapija (SSA pacienti). Dažiem pacientiem cukura diabēts vai glikozes tolerances traucējumi ir bijuši pirms SSA terapijas uzsākšanas, taču citiem glikozes metabolisma traucējumi diagnosticēti līdz ar SST analogu terapijas uzsākšanu, un nav iespējams izvērtēt, vai tiem ir medikamentoza izcelsme, jo iespējams, ka glikozes tolerances traucējumi pastāvējuši jau pirms SSA terapijas, kas tagad tās ietekmē manifestējas kā cukura diabēts. Līdz ar to ir svarīgi veikt orālās glikozes tolerances testu, ne tikai lai eksakti novērtētu akromegālijas aktivitātes bioķīmisko rādītāju – GH koncentrāciju serumā –, bet šādā veidā agrīni var atklāt arī glikozes vielmaiņas traucējumus.

Viena no biežākajām SSA terapijas blaknēm ir žultsakmeņu slimība. SSA nomāc žultspūšļa kontraktilitātes spēju, ko izraisa holecistokinīna izdalīšanās tievajās zarnās pēc maltītes. Tiek ietekmēta arī žults atcece un, iespējams, arī tās litogenitāte [2, 8, 12, 14, 22]. Žultsakmeņi un nosēsts kā SSA terapijas blakne var izveidoties pat pusei pacientu; tas parasti notiek pirmajā terapijas gadā [22]. Taču Eiropas multicentru pētījumā par viena gada *Sandostatin LAR* terapijas efektivitāti (pacientiem, kas iepriekš bijuši jutīgi pret *octreotide s.c.*), secināts, ka šis medikaments nepalielina žultsakmeņu slimības veidošanās risku [15], lai arī augstāk minētie literatūras dati liecina, ka žultsakmeņu slimība bieži attīstās tieši pirmajā SSA terapijas gadā. Mazākā pētījumā [4], kas aptvēra 22 akromegālijas pacientus, žultsakmeņu slimības rašanos novēroja 23 % (5/22) pacientu pēc vidēji 41 mēneša (12–89 mēnešu) ilgas *depo* SSA terapijas.

PSKUS ar SSA ārstētajiem slimniekiem žultsakmeņu slimību un nosēstu novēroja 50 % (8/16). Par dažiem pacientiem nav skaidrs, vai žultsakmeņu slimība ir SSA terapijas blakne, jo vairumā gadījumu žultsakmeņu slimības norise ir asimptomātiska. Eksakti pirms SSA terapijas uzsākšanas būtu ultrasonogrāfiski jāizvērtē žultsakmeņu slimības esamība. Veicot aptauju akromegālijas pacientiem, kuri saņem SSA, varēja mēģināt novērtēt holelitiāzes kā SSA terapijas blakni. Pēc SSA terapijas uzsākšanas diskomforta/sāpju epizodes labajā parībā parādījās 25 % (2/8) aptaujāto pacientu, kā arī aholiskas vai gaišākas feces arī bija 25 % (2/8) aptaujāto pacientu, kas varētu liecināt par žultsakmeņu slimības palielinātu attīstīšanās risku traucētas žultspūšļa un žults izvadceļu motorikas dēļ.

PSKUS ar 88 % SSA ārstētajiem pacientiem bija hipertensija. Hipertensija ir raksturīga akromegāliju pavadoša slimība [7]. Elpas trūkumu slodzes laikā, noejot 500 m vai uzkāpjot otrajā stāvā, novēroja 63 % aptaujāto pacientu; pēc SSA terapijas uzsākšanas tas mazinājās 40 % pacientu. Elpas trūkums slodzes laikā varētu liecināt par sirds mazspēju (atbilstoši NYHA II funkcionālajai klasei). Akromegālijas gadījumā bieži attīstās kardiomegālija (kā visceromegālijas izpausme) un kreisā kambara hipertrofija, ko veicina arī akromegālijas slimniekiem bieži novērojamā hipertensija, kas noved pie sirds mazspējas. Literatūras dati liecina, ka SSA terapijai ir labvēlīga ietekme uz sirds struktūru un funkciju [10], par ko netieši varētu liecināt arī raksturīgā sirds mazspējas simptoma – elpas trūkuma slodzes laikā – samazināšanās, ko novēroja PSKUS ar SST analogiem ārstētiem akromegālijas slimniekiem. Taču, lai precīzi novērtētu sirds struktūras un funkcijas izmaiņas SST analogu terapijas laikā, būtu nepieciešami ehokardiogrāfijas dati.

Osteoartropātiju novēroja 88 % akromegālijas slimnieku, kuri saņēma PSKUS SST analogus; 80 % no aptaujātajiem pacientiem artralģijas bija mazinājušās. Karpālā kanāla sindromu novēroja 44 % pacientu, kuri saņēma SSA, pēc SSA terapijas tā klīniskās izpausmes bija mazinājušās 80 % no aptaujātajiem pacientiem. SSA terapija bija efektīvi mazinājusi akromegālijas klīniskās izpausmes kaulu-locītavu-muskuļu aparātā.

Polinodozu eitireoīdu strumu novēroja 25 % akromegālijas pacientu, kas PSKUS ārstēti ar SSA; 13 % pacientu bija sekundāra hipotireoze pēc polinodozas strumas operācijas. Biežo strumu sastopamību akromegālijas pacientiem varētu uzskatīt par visceromegālijas izpausmi. Kā reta ķirurģiska komplikācija [23] un hipopituitārisma izpausme [20] pēc staru terapijas vienai pacientei bija attīstījusies sekundāra virsnieru mazspēja, ko varētu saistīt ar hipofīzes funkcijas traucējumiem (nepietiekamu adrenokortikotropā sekrēciju) pēc šo ārstēšanas metožu lietošanas.

Krākšana miegā bija 100 % aptaujāto akromegālijas slimnieku, kas PSKUS saņēma SSA. SSA terapijas ietekmē tā samazinājās 38 % pacientu. Krākšana akromegālijas slimniekiem ir saistīta ar anatomiskām izmaiņām (mēles, balss saišu u. c.) kā visceromegālijas izpausme.

Aktuāla ir preoperatīvās SSA terapijas problēma [1, 6, 26]. Kuriem pacientiem tā varētu būt piemērota? Literatūras dati liecina, ka tai varētu būt nozīme potenciāli ķirurģiski ārstējamu hipofīzes adenomu terapijā, kad nav skaidrs, vai ķirurģiska terapija ir lietderīga, un pēc SSA terapijas posma (pusgada) izvērtē operācijas iespējamību.

Jauna stratēģija pret SSA rezistentu pacientu ārstēšanā ir augšanas hormona receptoru antagonists pegvisomants [7, 13]. Literatūrā kā klīnisks gadījums ir prezentēts pacients, kurš paralēli SSA terapijai saņēma augšanas hormona receptoru antagonistu pegvisomantu [17].

Secinājumi

Sandostatin LAR aktīvas akromegālijas slimniekiem efektīvi pazemināja augšanas hormona koncentrāciju asinīs pēc 12 mēnešu terapijas un ilgākā laika posmā, taču vairumam pacientu nenodrošināja tā optimālu līmeni un IGF-1 koncentrācijas normalizēšanos asinīs. Nav statistiski ticamas atšķirības starp augšanas hormona līmeņa pazemināšanos pēc 12 mēnešu *Sandostatin LAR* terapijas un novērojamā perioda beigās.

Pēc 12 mēnešu terapijas un novērojamā perioda beigās netika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības augšanas hormona līmeņa pazemināšanā aktīvas akromegālijas slimniekiem, kuri kā primāro terapiju saņēma *Sandostatin LAR*, un aktīvas akromegālijas slimniekiem, kam *Sandostatin LAR* bija kā adjuvantā terapija (pēc ķirurģiskas un/vai staru terapijas). Tāpat starp abām pacientu grupām netika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības augšanas hormona izejas līmenī asinīs, uzsākot *Sandostatin LAR* terapiju. *Sandostatin LAR* ir vienlīdz efektīvs gan kā primārā akromegālijas terapija, gan kā adjuvantā akromegālijas terapija pēc ķirurģiskas un/vai staru terapijas. *Sandostatin LAR* samazina augšanas hormonu producējošas hipofīzes adenomas apjomu vai (biežāk) aptur to palielināšanos apjomā pēc vismaz 12 mēnešu

terapijas. Hipofīzes adenomas samazināšanās apjomā vai tā stabilizēšanās nekorelē ar augšanas hormona hipersekreciju. Aktīvas akromegālijas slimniekiem bromokriptīna pievienošana devā 5 mg/dn. *Sandostatin LAR* terapijai nenodrošina labāku kontroli pār augšanas hormona līmeni asinīs. Ilgas darbības somatostatīna analogu terapija (*depo* oktreotīds un lanreotīds) efektīvi mazina simptomus (nogurumu, galvassāpes, svīšanu, elpas trūkumu, artralģijas, karpālā kanāla sindromu un krākšanu) aktīvas akromegālijas slimniekiem un ir labi panesama. Biežākās blaknes ir žultsakmeņu slimība, viegla diareja, uzsākot terapiju, un sāpes injekcijas vietā. Akromegālijas slimniekiem biežākās pavadošās un blakusslimības ir hipertensija, cukura diabēts un glikozes tolerances traucējumi, osteoartropātija, žultsakmeņu slimība, resnās zarnas polipi, cistas nierēs un sievietēm – dzemdes mioma un dzemdes kakliņa polipi. Akromegālijas slimnieku terapijas efektivitātes kontrolē plašāk būtu jāievieš GH sekrecijas supresijas novērtēšana orālās glikozes tolerances testa laikā, kā arī IGF-1 koncentrācijas serumā noteikšana. Pret SSA terapiju rezistentu akromegālijas pacientu ārstēšanā būtu jāapsver augšanas hormona antagonista pegvisomanta ieviešana klīniskajā praksē.

Literatūra

1. Abe T., Lüdecke D. K. Effects of preoperative octreotide treatment on different subtypes of 90 GH-secreting pituitary adenomas and outcome in one surgical centre. *Eur. J. Endocrinol.*, 2001, 145, 137–145.
2. Afargan M., Tiensuu J. E., Gelerman G., Rosenfeld R., Ziv O., Karpov O., Wolf A., Bracha M., Shohat D., Liapakis G., Gilon C., Hoffman A., Stephensky D., Oberg K. Novel long-acting somatostatin analog with endocrine selectivity: potent suppression of growth hormone but not of insulin. *Endocrinol.*, 2001, 142 (1), 477–486.
3. Amato G., Mazziotti G., Rotondi M., Iorio S., Doga M., Sorvillo F., Manganello G., Di Salle F., Giustina A., Carella C. Long-term effects of lanreotide SR and octreotide LAR on tumour shrinkage and GH hypersecretion in patients with previously untreated acromegaly. *Clin. Endocrinol.*, 2002, 56, 65–71.
4. Ayuk J., Stewart S. E., Stewart P. M., Sheppard M. C. Long-term safety and efficacy of depot long-acting somatostatin analogs for the treatment of acromegaly. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87 (9), 4142–4146.
5. Ayuk J., Stewart S. E., Stewart P. M., Sheppard M. C., European Sandostatin LAR group. Efficacy of Sandostatin LAR (long-acting somatostatin analogue) is similar in patients with untreated acromegaly and those previously treated with surgery and/or radiotherapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, 60 (3), 375–381.
6. Ben-Shlomo A., Melmed S. The role of pharmacotherapy in preoperative management of patients with acromegaly (Review 154). *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, 88 (3), 963–968.
7. Clemmons D. R., Chiara K., Freda P. U., Ho K. K. Y., Klibanski A., Melmed S., Shalet S. M., Strasburger C. J., Trainer P. J., Thorner M. O. Optimizing control of acromegaly, integrating a growth hormone receptor antagonist into the treatment algorithm. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, 88 (10), 4759–4767.
8. Daughaday W. H. Octreotide is effective in acromegaly but often results in cholelithiasis. *Ann. Int. Med.*, 1990, 112 (3), 159–160.

9. Esposito V., Santoro A., Minniti G., Salvati M., Innocenzi G., Lanzetta G., Cantore G. Transsphenoidal adenomectomy for GH-, PRL- and ACTH-secreting pituitary tumours, outcome analysis of 125 patients. *Neurol. Sci.*, 2004, 25 (5), 251–256.
10. Freda P. U. Somatostatin analogs in acromegaly (Clinical review 150). *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87 (7), 3013–3018.
11. Jenkins P. J. Acromegaly and cancer. *Horm. Res.*, 2004, 62 Suppl. 1, 108–115.
12. Kian Y. H., Weissberger A. J., Marbach P., Lazarus L. Therapeutic efficacy of the somatostatin analog SMS 201–995 (octreotide) in acromegaly. *Ann. Int. Med.* 1990, 112 (3), 173–181.
13. Kopchick J. J., Parkinson C., Stevens E. C., Trainer P. J. Growth hormone receptor antagonists, discovery, development, and use in patients with acromegaly. *Endocrine Reviews* 2002, 23 (5), 623–646.
14. Kvistborg Fløgstad A., Halse J., Grass P., Abisch E., Djøseland O., Kutz K., Bodd E., Jervell J. A comparison of octreotide, bromocriptine, or a combination of both drugs in acromegaly. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994, 79 (2), 461–465.
15. Lancranjan I., Atkinson A. B. Results of a European multicentre study with Sandostatin LAR in acromegalic patients. Sandostatin LAR Group. *Pituitary*, 1999, 1 (2), 105–114.
16. Laws E. R., Randall R. von, Abboud C. F. Special problems in the therapeutic management of acromegaly. In: Growth Hormone, Growth Factors, and Acromegaly. Ed. by Dieter K. Lüdecke and George Tollis. New York: Raven Press, 1987, pp. 259–266.
17. Lely A. J. van der, Muller A. F., Janssen J. A., Davis R. J., Kenneth A. Z., Scarlett J. A., Lamberts S. W. Control of tumor size and disease activity during cotreatment with octreotide and the growth hormone receptor antagonist pegvisomant in an acromegalic patient. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 86 (2), 478–481.
18. Melmed S., Casanueva F. F., Cavagini F., Chanson P., Frohman L., Grossman A., Ho K., Kleinberg D., Lamberts S., Laws E., Lombardi G., Vance M. L., Werder K. von, Wass J., Giustina A. Guidelines for acromegaly management. (Consensus) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87 (9), 4054–4058.
19. Melmed S., Sternberg R., Cook D., Klibanski A., Chanson P., Bonert V., Vance M. L., Rhew D., Kleinberg D., Barkan A. A critical analysis of pituitary tumor shrinkage during primary medical therapy in acromegaly. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005 April 12.
20. Minniti G., Jaffrain-Rea M. L., Osti M., Esposito V., Santoro A., Solda F., Garguilo P., Tamburrano G., Enrici R. M. The long-term efficacy of conventional radiotherapy in patients with GH-secreting pituitary adenomas. *Clin. Endocrinol.*, 2005, 62 (2), 210–216.
21. Motulsky H. *Intuitive Biostatistics*. New York: Oxford University Press, 1995. P. 386.
22. Newman C. B., Melmed S., Snyder P. J., Young W. F., Boyajy L. D., Levy R., Stewart W. N., Klibanski A., Molitch M. E., Gagel R. F., Boyd A. E., Sheeler L., Cook D., Malarkey W. B., Jackson I. M. D., Vance M. L., Thorner M. O., Ho P. J., Jaffè C. A., Frohman L. A., Kleinberg D. L. Safety and efficacy of long-term octreotide therapy of acromegaly, results of a multicenter trial in 103 patients – a clinical research center study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1995, 80 (9), 2768–2775.
23. Nominos P., Buchfelder M., Fahlbusch R. The outcome of surgery of 688 patients with acromegaly using current criteria of biochemical “cure”. *Eur. J. Endocrinol.*, 2005, 152 (3), 379–387.

24. Park S., Kamegai J., Johnson T. A., Frohman L. A., Kineman R. D. Modulation of pituitary somatostatin receptor subtype (sst1–5) messenger ribonucleic acid levels by changes in the growth hormone axis. *Endocrinol.*, 2000, 141 (10), 3556–3563.
25. Petrossians P., Borges-Martins L., Espinoza C., Daly A., Betae D., Valdes-Socin H., Stevenaert A., Chanson P., Beckers A. Gross total resection or debulking of pituitary adenomas improves hormonal control of acromegaly by somatostatin analogs. *Eur. J. Endocrinol.*, 2005, 152 (1), 61–66.
26. Plockinger U., Quabbe H. J. Presurgical octreotide treatment in acromegaly, no improvement of final growth hormone (GH) concentration and pituitary function. A long-term case control study. *Acta Neurochir.*, April 4, 2005.
27. Saeger W., Riedel M., Lüdecke D. K. Pituitary morphology in acromegaly. In: Growth Hormone, Growth Factors, and Acromegaly. Ed. by Dieter K. Lüdecke and George Tollis. New York: Raven Press, 1987, pp. 95–106.
28. Smith-Jones P. M., Bischof C., Leimer M., Gludovacz D., Angelberger P., Pangerl T., Peck-Radosavljevic M., Hamilton G., Kaserer K., Kofler A., Schlagbauer-Wald H., Traub T., Virgolini I. DOTA-Lanreotide, a novel somatostatin analog for tumor diagnosis and therapy. *Endocrinol.*, 1999, 140 (11), 5136–5148.
29. Trouillas J., Chevallier P., Remy C., Rajas F., Cohen R., Calle A., Hooghe-Peters E. L., Rousset B. Differential actions of the dopamine agonist bromocriptine on growth of SMtMW tumors exhibiting a prolactin and/or a somatotroph cell phenotype, relation to dopamine D₂ receptor expression. *Endocrinol.*, 1999, 140 (1), 13–21.
30. Verhulst M. L., Hopman W. P. M., Peters W. H. M., Jansen J. B. M. J. Effects of *Helicobacter pylori* infection on endocrine and exocrine mucosal functions in the upper gastrointestinal tract. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2000, 35 Suppl. 232, 21–31.

Summary

Initial transsphenoidal surgery still appears to be the best option for many patients with growth hormone (GH) secreting adenomas; long-acting depot somatostatin analogues are now undergoing evaluation as primary treatment in selected patients when the possibility of surgical cure is low. We performed a retrospective study to evaluate the therapeutic effectiveness, including impact on GH, IGF-1 level, tumour shrinkage, clinical symptoms, and safety of the long-acting depot somatostatin analogues and comorbidity in acromegalic patients treated in the Endocrinology Center of Pauls Stradins Clinical University Hospital. Data from 16 patients (10 women and 6 men) with active acromegaly were analysed. 13 patients had received Sandostatin LAR, 2 patients had received Somatuline Autogel, and 1 patient had received Sandostatin LAR, then Somatuline SR, and then Sandostatin LAR. 3 patients had received lanreotide (Somatuline SR and Somatuline Autogel). Mean pre-treatment GH levels of patients that received Sandostatin LAR were 21.69 ± 4.79 ng/ml. Results after 12-month treatment indicated reduction in GH levels (7.65 ± 1.82 ng/ml; $p = 0.01$) and long-term at latest follow-up (5.38 ± 1.02 ng/ml; $p = 0.002$). There was no significant distinction between 12-month treatment and the latest follow-up results. Using GH criteria (serum GH < 2 ng/ml), 14% of patients were cured during 12-month treatment and 21% at the latest follow-up. 38% of patients achieved normal IGF-1 values at the latest follow-up. GH level < 1.0 ng/ml after OGTT occurred in 14% of patients. There were no significant distinctions in GH level reduction after 12 months and at the latest follow-up between primary and secondary Sandostatin LAR therapy. There were no significant distinctions in GH level reduction between Sandostatin LAR patients that had received bromocriptin and Sandostatin LAR patients

that did not have dopamine agonist therapy. In conclusion, Sandostatin LAR effectively reduces GH levels in acromegalic patients but does not provide the optimal GH level after a year-long treatment. Sandostatin LAR primary therapy is similarly effective as adjuvant therapy after surgery or/and radiotherapy. Bromocriptin in mean dose of 5 mg/d has no additional beneficial effects to GH level in patients receiving Sandostatin LAR. Sandostatin LAR stops the tumour growth or leads to shrinkage after a year of treatment or longer. Tumour shrinkage does not correlate with reduction of GH level. Somatostatin analogues effectively decrease clinical symptoms of acromegaly. Somatostatin analogues are well-tolerated; frequent side effects of the somatostatin analogue therapy are gallstones, mild diarrhoea, and pain at the site of injection. Most of acromegalic patients that received somatostatin analogues have hypertension, osteoarthropathy, type 2 diabetes and impaired glucose tolerance, and gallstones or sludge.

Keywords: *acromegaly, somatostatin analogues.*

Balona remodelējošās tehnikas efektivitāte intrakraniālu aneirismu embolizācijā: viena centra pieredze

Balloon Remodeling Technique in Treatment of Intracranial Aneurysms: a Single Center Experience

Kārlis Kupčs*, Jānis Šavlovskis*, Helmutš Kidikas*, Igors Aksiks,
Aleksejs Vinogradovs***, Andris Veiss***

*P. Stradiņa slimnīca, Diagnostiskās radioloģijas institūts,
Invazīvās un neiroradioloģijas nodaļa

Pilsõņu 13, Rīga, Latvija. E-pasts: kupcs@hms.lv

**P. Stradiņa slimnīca, Neuroķirurgijas klīnika

***P. Stradiņa slimnīca, Anestezioloģijas klīnika

Platā kakliņa intrakraniālu aneirismu endovaskulārā ārstēšana joprojam rada lielas grūtības invazīvam neiroradiologam, jo, operācijas laikā pastāv liels risks, ka embolizācijas spirāles izkrīt no aneirismas maisa, vai prolabē asinsvada lūmenā. Viena no metodēm, kā izvairīties no šādām komplikācijām, ir balona remodelējošā tehnika. Pētījumā tiek salīdzināts aneirismu embolizācijas tehniskais iznākums ar un bez balona remodelējošās tehnikas lietošanas.

MATERIĀLI un METODES: Retrospektīvi tiek apkopoti dati par endovaskulāri embolizētām aneirismām laika periodā no 2004. līdz 2007. gadam, iekļaujot analizē 182 aneirismas. 52 aneirismas (35%) tika ārstētas ar balona remodelējošo tehniku.

REZULTĀTI: Tika atrasta nozīmīga atšķirība izoperēto aneirismu kakliņa-maisa indeksā: 0,68 konvencionāli operētām aneirismām pret 0,76, kas operētas ar balona remodelējošo tehniku ($p < 0,05$). Savukārt būtiskas atšķirības embolizācijas tehniskajā rezultātā starp grupām netika konstatētas. Kopš balona remodelējošās tehnikas ieviešanas mūsu klīniskajā praksē saistībā ar šo tehniku netika novērots neviens trombembolijas gadījums.

SECINĀJUMS: Balona remodelējošā tehnika ļauj ārstēt platā kakliņa intrakraniālās aneirismas ar tīkpat labu tehnisku rezultātu kā šaura kakliņa aneirismas. Mūsu pieredze rāda, ka šī metode ir droša un efektīva gadījumos, kad aneirismas platā kakliņa dēļ konvencionālā embolizācijas pieeja ir apgrūtināta vai nav iespējama. Balona remodelācijas tehnika ir indicēta aneirismām ar kakliņa diametru > 4 mm, vai kakliņa-maisa indeksu $> 0,75$.

Atslēgvārdi: intrakraniālu aneirismu embolizācija, balona remodelējošā tehnika

Ievads

Viens no galvenajiem intrakraniālu aneirismu endovaskulārās ārstēšanas limitējošiem faktoriem ir aneirismas maisa forma un īpaši – aneirismas kakliņa platums (1). 1992. gadā franču radiologs Žaks More (*Jacques Morets*) pirmais izstrādāja un ieviesa praksē intrakraniālu aneirismu kakliņa remodelējošo tehniku (2). Šī tehnika paredz balonkatetra inflāciju spirāļu implantācijas laikā un tā deflāciju un evakuāciju, kad aneirismas embolizācija ir pabeigta. Rezultātā intrakraniālās aneirismas vietā tiek “remodelēta” artērijas sieniņa. Spirāļu fizikālu īpatnību dēļ šī

remodelācija paliek stabila arī pēc balonkatetra deflēcijas (3), kaut arī atsevišķos gadījumos pie īpaši platā kakliņa aneirismām ir iespējama spirāļu protrūzija un migrācija (4, 5).

Šī metode ar laiku tika uzlabota, ieviešot jaunus šīm nolūkam izstrādātus balonkatetrus, kas atšķīrās gan pēc formas, gan arī pēc manipulatorām īpašībām. Šobrīd aneirismas kakliņa remodelācija ar balonu daudzos centros ir rutīnas tehnika, kas tiek lietota praktiski jebkuras lokalizācijas aneirismai. Atkarībā no aneirismas formas un barojošo artēriju stāvokļa praksē izmanto vairākus metodes paveidus: konvencionālo balona remodelējošo tehniku, retrogrādo pieeju un dubulto remodelējošo tehniku (6).

Jebkura embolizācija ar balona remodelējošās tehnikas lietošanu *a priori* tehniski ir sarežģītāka, nekā embolizācija bez balonkatetra, jo tiek izmantota sarežģītas anatomijas intrakraniālām aneirismām (7). Tā arī tiek lietota, lai novērstu notikušās intraoperatīvās komplikācijas – spirāļu protrūziju no aneirismas maisa uz barojošo artēriju vai arī mikrokatetra nepietiekamu stabilitāti embolizācijas laikā (8).

Pētījuma mērķis

Pirmā aneirismas endovaskulārā embolizācija, pielietojot balona remodelējošo tehniku, P. Stradiņa slimnīcā tika veikta 2004. gadā. Kopš tā laika ir uzkrāta plaša pieredze šīs metodes pielietošanā. Tiek apkopoti dati par balona remodelējošās tehnikas indikācijas kritērijiem, lietošanas biežumu un operācijas tehnisku iznākumu, salīdzinot tos ar konvencionālo endovaskulāru intrakraniālu aneirismu embolizāciju bez balonkatetra pielietošanas. Pētījuma mērķis ir pierādīt, ka, embolizējot platā kakliņa aneirismas un lietojot balona remodelējošo tehniku, tehniskais operācijas rezultāts ir līdzīgs rezultātiem, ko iegūst, embolizējot šaura kakliņa intrakraniālās aneirismas bez remodelējošās tehnikas.

Materiāli un metodes

Pētījumā tika apkopoti dati par endovaskulāru intrakraniālu aneirismu embolizāciju P. Stradiņa slimnīcās Invazīvās un neiroradioloģijas nodaļā laika periodā no 2004. līdz 2007. gadam. Informācija tika iegūta gan retrospektīvi – no slimības vēsturēm un slimnīcas medicīnisku attēlu arhivēšanas sistēmas (PACS), gan arī no prospektīvi dizainētās iekšējās invazīvās radioloģijas laboratorijas datubāzes.

Visas aneirismu embolizācijas procedūras tika sadalītas divās grupās: 1. grupa – embolizācijas veiktas bez aneirismas kakliņa remodelācijas ar balonu un 2. grupa – embolizācijas, ko veica ar balona remodelācijas tehniku neatkarīgi no tā, vai šī remodelācija tika lietota primāri vai sekundāri, novēršot spirāļu protrūziju. No pētījuma tika izslēgtas visas embolizācijas, kurās tika lietota stenta remodelācijas tehnika, ka arī tie gadījumi, kad embolizācija tika pārtraukta pirms pirmās embolizācijas spirāles atdalīšanas. Atkārtotas embolizācijas, ka arī vairāku aneirismu embolizācijas vienas operācijas laikā tika uzskatītas par atsevišķām procedūrām.

Aplūkotajā laika periodā endovazāli tika ārstētas 182 aneirismas. 52 aneirismas tika embolizētas, izmantojot balona remodelējošo tehniku. 14 pacientiem vienas procedūras laikā tika embolizētas divas aneirismas; 3 pacientiem – vienas

procedūras laikā – trīs aneirismas. Pārējiem 145 pacientiem vienas procedūras laikā tika embolizēta viena aneirisma. Piecas aneirismas tika embolizētas atkārtoti. Divos gadījumos embolizācija tika pārtraukta, neimplantējot aneirismas maisā nevienu spirāli. Abos gadījumos tās bija mazas ≤ 3 mm aneirismas. Viena no tām bija rupturēta (priekšējās komunikantās artērijas aneirisma), bet otra – nerupturēta (augšējās smadzeņu artērijas aneirisma); pēc neveiksmīgās embolizācijas tās tika izoperētas neiroķirurģiski ar labu klīnisku iznākumu. Septiņas aneirismas tika izslēgtas no analīzes, jo tika izoperētas, implantējot neirovaskulāru stentu.

Aneurismu lineārie izmēri – kakliņa un maisa diametri – tika rēķināti pēc 3D-rotācijas angiogrāfijas datiem, vai, ja šādi dati nebija pieejami, – pēc konvencionālās angiogrāfijas datiem.

Iespējamās aneurismu lokalizācijas tika reducētas, apvienojot vairākas tuvas lokalizācijas vienā grupā. Rezultātā tika iegūtas septiņas lokalizāciju grupas: 1 – ACI (*a. carotis interna*) sifona un ACI bifurkācijas zona; 2 – *A. basilaris* stumbrs un bifurkācija; 3 – PCoA (*a. communicans posterior*); 4 – ACM (*a. cerebri media*) M1 segments un M1 segmenta bifurkācija; 5 – smadzeņu artēriju aneirismas; 6 – ACA (*a. cerebri anterior*) A1 segmenta un ACoA (*a. communicans anterior*) aneirismas; 7 – perifērās, jeb ACP (*a. cerebri posterior*), ACM un ACA 2-4 pakāpes segmenti.

Tehniskais rezultāts konvencionālai embolizācijai un balona remodelējošās tehnikas metodei tika salīdzināts gan visiem pacientiem kopumā, gan arī atsevišķi izdalot pacientus ar akūtām aneurismu ruptūrām un pacientus ar nerupturētām aneurismām. Ja anamnēzes dati norādīja uz iespējamo subarahnoidālu saasiņojumu pagātnē, bet atbilstošā CT vai lumbālās punkcijas atradne bija negatīva, šie pacienti tika pieskaitīti nerupturētu aneurismu grupai.

Operācijas tehniskais rezultāts tika klasificēts atbilstoši modificētai Reimonda un Roja klasifikācijai (9, 10, 1. tabula).

1. tabula

Intrakraniālu aneurismu endovaskulārās embolizācijas tehniskā rezultāta klasifikācijas
The classifications of technical success of intracranial aneurysm coiling

Reimonda un Roja klasifikācija	Modificētā klasifikācija	Oklūzijas procents
<i>Raymond and Roy classification</i>	<i>Modified classification</i>	<i>Percentage of occlusion</i>
Totāla oklūzija / <i>Total occlusion</i>	Totāla oklūzija / <i>Total occlusion</i>	100%
Parciāla kakliņa vaskularizācija (“Dog ear”) / <i>Partial neck revascularization (Dog ear)</i>	Subtotāla oklūzija / <i>Subtotal occlusion</i>	> 98%
Reziduāla kakliņa vaskularizācija / <i>Residual neck revascularization</i>		> 90%
Reziduāla aneirismas maisa vaskularizācija / <i>Residual aneurysmal sac revascularization</i>	Nepilna oklūzija / <i>Incomplete occlusion</i>	< 90%

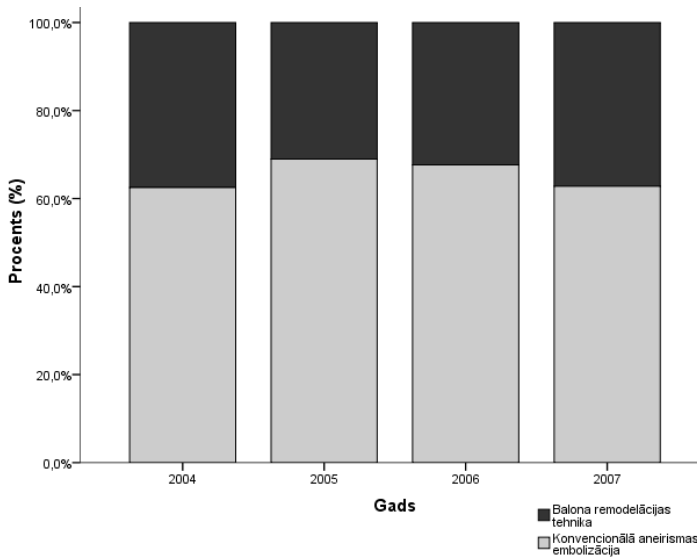
Embolizācijas tehnisko rezultātu izvērtēja pēc pēcoperācijas digitālām subtrakcijas angiogrāfijām darba projekcijās, ka arī, vairumā gadījumu, pēc rotācijas 3D angiogrāfijas rezultātiem.

Intrakraniālās aneirismas kakliņa remodelācijai tika izmantoti HyperForm® un HyperGlide® baloni (EV3, Plymouth, MN). Pārējie izmantotie materiāli (mikrokateetri, platīna spirāles, mikrovadītājtīgas) plaši variēja pat vienas embolizācijas procedūras laikā.

Statistikai analīzei tika izmantota SPSS programmas 16. versija. Visas grafikos atspoguļotās novirzes reprezentē 95 % ticamības intervālu. Neparametrisku rādītāju salīdzināšanai tika izmantots χ^2 -tests un *Mann-Whitney U*-tests, bet parametrisku rādītāju salīdzināšanai – neatkarīgu izlašu t-tests. Ja novērojumu skaits nebija pietiekams, lai spriestu par statistisku nozīmīgumu, attiecīgā testa būtiskuma līmenis (p-vērtība) netika norādīts.

Rezultāti

Balona remodelācijas tehnikas lietošanas īpatsvars kopējā embolizācijas procedūru kopā kopš metodes ieviešanas P. Stradiņa slimnīcā 2004. gadā būtiski nav mainījies (1. att.).

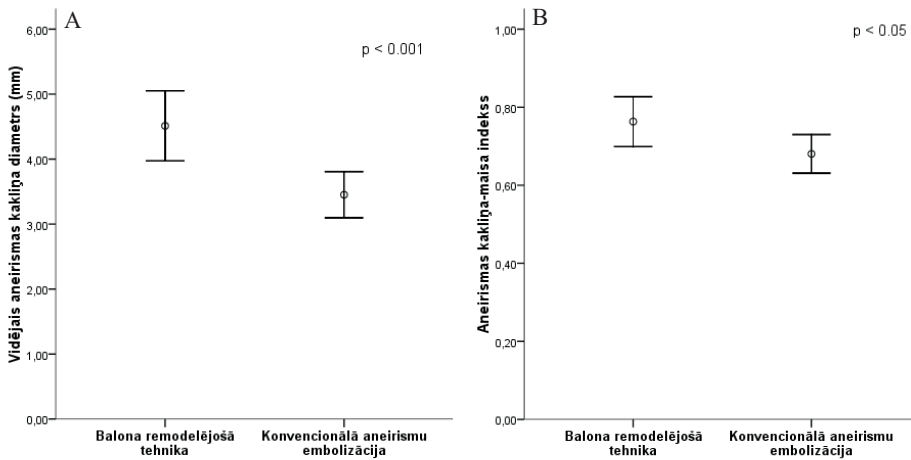


1. attēls. Proporcijas starp balona remodelācijas tehniku un konvencionālu aneirismas embolizāciju laika periodā no 2004. līdz 2007. gadam

Figure 1. Proportion between balloon remodeling technique and conventional aneurysm embolization procedure during the time period of 2004–2007

Aneurismu morfoloģijas atšķirības balona remodelējošās tehnikas un konvencionālās embolizācijas grupās ir parādītas 2. attēlā.

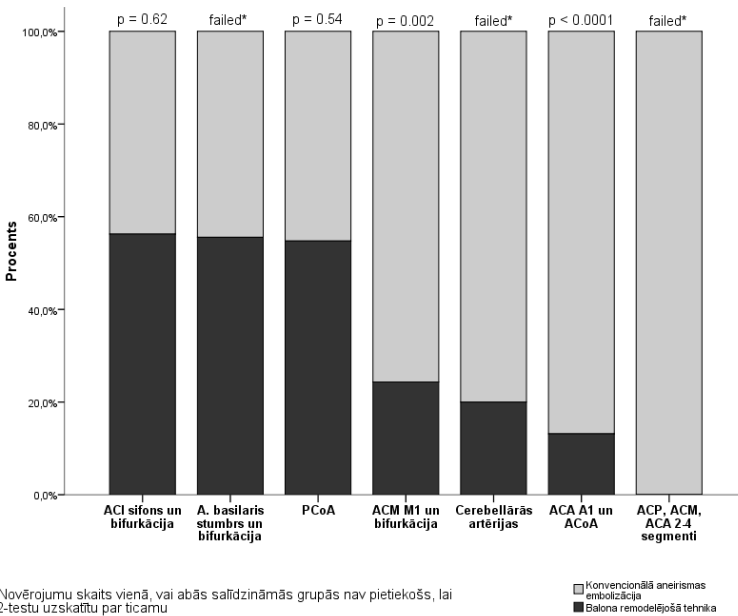
Neatkarīgu izlašu t-tests norāda uz būtiskām aneirismas kakliņa diametra atšķirībām starp embolizācijām, ko veica ar balona remodelējošo tehniku (4,51 mm) un embolizācijām, ko veica bez remodelācijas (3,45 mm) ($p < 0,001$). Arī kakliņa-maisa indekss abās embolizāciju grupās būtiski atšķiras ($p < 0,05$) – 0,68 pret 0,76.



2. attēls. Aneurismu kakliņa diametra (A) un kakla-maisā indeksa (B) vidējās vērtības aneirismām, kas embolizētas ar balona remodelācijas metodi, un konvencionāli embolizētām aneirismām

Figure 2. Aneurysmal neck diameter (A) and neck-to-sac ratio (B) values for the balloon remodeling and conventional embolization technique

Izmantotu embolizāciju tehniku proporcijas atšķirīgās lokalizācijās būtiski variē (sk. 3. att.).

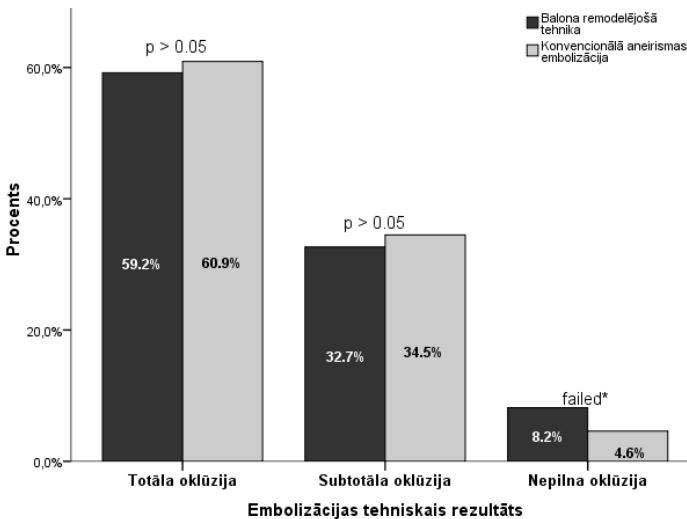


3. attēls. Balona remodelējošās tehnikas un konvencionālās embolizācijas tehnikas īpatsvari atšķirīgām aneirismu lokalizācijām. p-vērtības norāda uz χ^2 -testa statistisku ticamību

Figure 3. Balloon remodeling technique prevalence in different localizations of aneurysms. χ^2 -test significance is calculated for each localization

Gan mugurējās cirkulācijas, gan priekšējās cirkulācijas proksimālās lokalizācijas aneurismas (ACI, *a. basilaris*) tiek embolizētas, plaši izmantojot balona remodelējošo tehniku. Jo distālāka ir aneurismas lokalizācija, jo mazāks ir mērķa asinsvada diametrs, jo retāk izmanto remodelācijas metodi.

Embolizācijas tehniskais rezultāts atkarībā no izmantotās tehnikas, neizdalot atsevišķi rupturētās un nerupturētās aneurismas, ir parādīts 4. attēlā, bet līdzīgi rezultāti atsevišķi rupturētām un nerupturētām aneurismām – attiecīgi 5. attēlā.

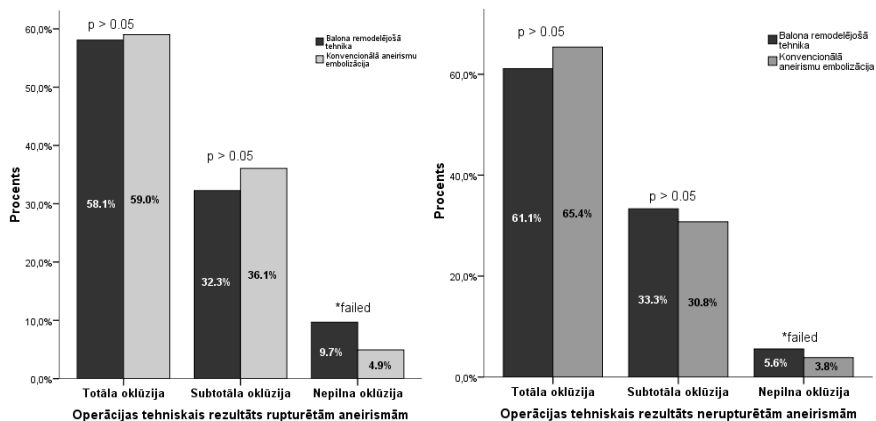


* Novērojumu skaits grupās nav pietiekošs, lai uzskatītu statistiskās analīzes rezultātus par ticamiem

4. attēls. Modificētā Reimonda un Roja klasifikācija aneurismu embolizācijas tehniskā rezultāta izvērtēšanai balona remodelēšanas teknikai un konvencionālai embolizācijas teknikai. Summārais procentu skaits katrai embolizācijas teknikai veido 100 %

Figure 4. Operation technical results after modified Raymond and Roy classification for the proportion between conventional and balloon remodeling embolization technique. The partial weight of each technique is 100%

Iegūtie rezultāti norāda uz to, ka aneurismu embolizācijas rezultāti starp balona remodelējošo un konvencionālo embolizācijas tehniku būtiski neatšķirās, neskatoties uz to, ka ar balona palīdzību embolizētās aneurismas bija ar ievērojami platāku kakliņu un lielāku kakliņa-maisa indeksu.



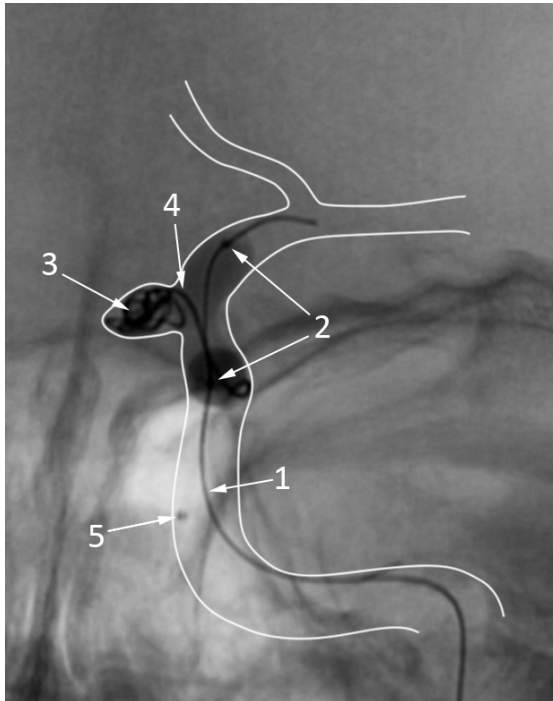
5. attēls. Aneurismu embolizācijas tehniskais rezultāts, izmantojot balona remodelējošo un konvencionālu embolizācijas tehniku rupturētām (A) un nerupturētām (B) aneirismām

Figure 5. Operation technical results of conventional and balloon remodeling embolization technique for ruptured (A) and unruptured (B) aneurysms

Arī sadalot rezultātus uz rupturētu un nerupturētu aneirismu grupām, operācijas tehniskā rezultāta proporcijas starp balona remodelējošo tehniku (sk. 6. attēlu) un konvencionālu embolizāciju nav mainījušas. Nevar izslēgt, ka, pieaugot embolizētu aneirismu skaitam, tieši nepilnas oklūzijas grupā var parādīties būtiskās atšķirības starp aneirismu embolizācijas metodēm, jo tieši šai grupā pārsvars ir balona remodelēšanas metodei, taču pēc attiecīgajā brīdī pieejamiem datiem šāds slēdziens nebūtu pamatots.

Diskusija

Pirms klīniskajā praksē tika plaši ieviesti speciāli aneirismas kakliņa remodelācijai paredzēti specializēti neirovaskulāri balonkatetri, balonu navigācija izlocītajā smadzeņu vaskulatūrā bieži vien bija apgrūtināta (11) un komplikējās ar vazospazmu un balona plīšanu infliācijas laikā. Jaunajiem HyperForm® balonkatetriem ir vairākas priekšrocības: tie ir ar ļoti zemu profilu un ļoti elastīgi – viegli maina formu no cilindriskās uz elipsoido, kas ir būtiski, remodelējot artēriju bifurkācijas vietas. Savukārt HyperGlide® balonkatetri ir dizainēti sānu aneirismām, jo neieņem artēriju bifurkāciju formu.



6. attēls. Attēla diagramma, kas parāda balona remodelēšanas tehniku aneirisma embolizācijas laikā. (1) Vadītājstīga, pāri kurai ievada balonu, kuru pozicionē pēc rentgenpozitīviem marķieriem, kas atrodas balona galos (2). Aneurisma maisu pakāpeniski aizpilda ar metāliskām spirālēm (3), ko ievada caur mikrokatetru (4), kurš tiek nofiksēts aneirisma maisā ar uzpūsto balonu. (5) Mikrokatetra proksimālais marķieris

Figure 6. **Balloon remodeling technique during coiling procedure.** Balloon is introduced into the cerebral artery over the microguidewire (1) and positioned in front of the aneurysmal neck. The only structures of deflated balloon which are visible during fluoroscopy are the proximal and distal markers (2). Aneurysmal sac is filled with platinum coils introduced through microcatheter (4) fixed by the inflated balloon; 5 – the proximal marker of the microcatheter

Galvenā balona remodelējošās tehnikas indikācija ir intrakraniāla aneirisma ar platu kakliņu, kas tiek definēta kā aneirisma ar kakliņa diametru virs 5 mm, vai arī aneirisma, kurai kakliņa diametrs tuvojās maisa diametram (kakliņa-maisa indekss $>0,7$ (12)). Kritisks aneirisma kakliņa diametrs, virs kura konvencionālā aneirisma embolizācija komplikējas ar spirāļu protrūziju lūmenā, iespējams, ir <5 mm. Pēc Zubillaga *et al.* datiem (13), konvencionālā embolizācija aneirismām ar kakliņa diametru >4 mm tikai 15 % gadījumu beidzās ar totālu aneirisma oklūziju. Mūsu klīnikā lielākā daļa intrakraniālu aneirismu, kas tiek embolizētas bez balona pielietošanas, ir ar kakliņa diametru <4 mm un ar kakliņa-maisa indeksu $<0,75$ (sk. 2. attēlu).

Balona remodelējošās tehnikas disproporcija dažādas anatomiskās lokalizācijas aneirismām ir skaidrojama divējādi: pirmkārt, proksimālās lokalizācijas aneirisma (ACI, PCoA, *a. basilaris*) ir relatīvi vieglāk sasniedzamas – nav nepieciešamības

iet cauri izlocītām cerebrālām artērijām; otrkārt, lielā izmēra aneirismas, ko var embolizēt tikai ar balona remodelējošo tehniku, biežāk attīstās no lielā diametra artērijām (ACI, ACM, *a. basilaris*) (14, 15). Viens no iespējamiem izskaidrojumiem intrakraniālu aneirismu lokalizācijai korelācijai ar rupturētu aneirismu izmēriem pamatojas uz Laplasa likumu, pēc kura intrakraniālās aneirismas “kritiskais” izmērs, pie kura notiek ruptūra, ir atkarīgs no aneirismātiski izmainītās artērijas sienīgas biezuma (16). Tomēr, pateicoties zēmam profilam, neirovaskulārus balonus var izmantot arī distālāk par smadzeņu artēriju I. pakāpes segmentiem (17).

Faktiski mūsu pieredze norāda uz to, ka platā kakliņa aneirismu embolizācija tehniski ir iespējama ar rezultātiem, kas ir līdzīgi šaura kakliņa aneirismu embolizācijām. Līdzīgus remodelēšanas tehnikas rezultātus parāda arī citi autori (11).

Trombembolija ir viens no iespējamiem balona remodelējošās tehnikas komplikācijas riskiem. Nevienā no mūsu analizē iekļautajām embolizācijas procedūrām ar balona remodelācijas pielietošanu trombembolija, kas saistīta ar balona inflāciju, netika dokumentēta. Literatūras meta-analīze par šīs komplikācijas incidenci ļāva secināt, ka balona remodelēšanas metode nav saistīta ar augstāku trombembolijas risku, salīdzinot ar konvencionālu aneirismu embolizāciju (18). Vēl viena nopietna komplikācija, ko bieži saista ar balona-remodelēšanu, ir aneirismas intraoperatīvā reruptūra (19, 3). Tomēr arī šīs komplikācijas saistība ar balona remodelēšanu netika pierādīta (18). Daži autori norāda uz iespējamām intīmas bojājumiem, ko izsauc balona inflācija cerebrālajās artērijās (2, 8), taču mūsu pieredzē nav neviena gadījuma, kad pēc neirovaskulārā balona inflācijas notiktu intīmas disekcija.

Secinājumi

Mūsu klīniskās rezultāti norāda uz balona remodelēšanas tehnikas efektivitāti plata kakliņa aneirismu endovazālai embolizācijai: pateicoties šai teknikai, embolizācijas tehniskais rezultāts, operējot plata un šaura kakliņa aneirismas, praktiski ir līdzīgs. Šie rezultāti netieši norāda arī uz to, ka pacientu selekcija balona remodelēšanas teknikai, kas ir pieņemta mūsu centrā, ir korekta un ieteicama preoperatīvai plānošanai – balona remodelējošā tehnika ir indicēta aneirismām ar kakliņa diametru >4 mm, un kakliņa-maisa indeksu >0,75.

Literatūra

1. Debrun, G. M., Aletich, V. A., Kehrli, P., Misra, M., Ausman, J. I., Charbel, F. Selection of cerebral aneurysms for treatment using Guglielmi detachable coils: the preliminary University of Illinois at Chicago experience. *Neurosurgery*, 1999, 43 (6), 1296–1297.
2. Moret, J., Cognard, C., Weill, A., Castaing, L., Rey, A. The “remodeling technique” in the treatment of wide-neck intracranial aneurysms. *Intervention Neuroradiol*, 1997, 3, 21–35.
3. Akiba, Y., Murayama, Y., Vinuela, F., Lefkowitz, M. A., Duckwiler, G. R., Gobin Y. P. Balloon-assisted Guglielmi detachable coiling of wide-necked aneurysm. Part I: experimental evaluation. *Neurosurgery*, 1999, 45, 519–527.

4. Mericle, R. A., Lanzino, G., Wakhloo, A. K., Guterman, L. R., Hopkins, L. N. Stenting and secondary coiling of intracranial internal carotid artery aneurysm: technical case report. *Neurosurgery*, 1998, 43 (5), 1229–1234.
5. Sekhon, L. N., Morgan, M. K., Sorby, W., Grinnell, V. Combined endovascular stent implantation and endosaccular coil placement for the treatment of a wide-necked vertebral artery aneurysm: technical case report. *Neurosurgery*, 1998, 43 (2), 380–383.
6. Spelle, L., Piotin, M., Blanc, R., Moret, J. Remodeling technique in the treatment of intracranial aneurysms: indications, limits and non-indications. *Interv. Neuroradiol.*, 2008, 14, 52–59.
7. Malek, A. M., Halbach, V. V., Phatouros, C. C., Lempert, T. E., Meyers, P. M., Dowd, C. F., et al. Balloon-assisted technique for endovascular coil embolization of geometrically difficult intracranial aneurysms. *Neurosurgery*, 2000, 46 (6), 1406–1407.
8. Lefkowitz, M. A., Gobin, Y. P., Akiba, Y. Balloon-assisted Guglielmi detachable coiling of wide-necked aneurysms, II: clinical results. *Neurosurgery*, 1999, 45, 531–536.
9. Raymond, J., Roy, R. Safety and efficacy of endovascular treatment of acutely ruptured aneurysms. *Neurosurgery*, 1997, 41 (6), 1245–1246.
10. Akpek, S., Arat, A., Morsi, H., Klucznick, R. P., Strother, C. M., Mawad, M. E. Self-expandable stent-assisted coiling of wide-necked intracranial aneurysms: a single-center experience. *Am. J. Neuroradiol.*, 2005, 26, 1223–1231.
11. Cottier, J. P., Pasco, A., Gallas, S., Gabrillargues, J., Cognard, C., Drouineau, J. Utility of balloon-assisted Guglielmi detachable coiling in the treatment of 49 cerebral aneurysms: a retrospective, multicenter study. *Am. J. Neuroradiol.*, 2001, 22, 345–351.
12. Ma, B., Harbaugh, R. E., & Raghavan, M. L. Three-dimensional geometrical characterization of cerebral aneurysms. *Ann. Biomed. Eng.*, 2004, 32 (2), 264–273.
13. Zubillaga, A., Guglielmi, G., Vinuela, F., Vinuela, F., & Duckwiler, G. R. Endovascular occlusion of intracranial aneurysms with electrically detachable coils: correlation of aneurysm neck size and treatment result. *Am. J. Neuroradiol.*, 1994, 15, 815–820.
14. Kupersmith, M. J., Hurst, R., Bernstein, A., Choi, I. S., Jafaar, J., Ransohoff, J. The benign course of cavernous carotid artery aneurysms. *J. Neurosurg.*, 1992, 77 (5), 690–693.
15. Bernstein, A., Flamm, E. S., Kupersmith, M. J. Unruptured intracranial aneurysms. Comment. *N. Engl. J. Med.*, 1999, 340 (18), 1439–1442.
16. Carter, B. S., Sheth, S., Chang, E., Sethl, M., Ogilvy, C. S. Epidemiology of the size distribution of intracranial bifurcation aneurysms: smaller size of distal aneurysms and increasing size of unruptured aneurysms with age. *Neurosurgery*, 2006, 85 (2), 217–223.
17. Lubricz, B., Leclerc, X., Gauvrit, J. Y., Leyeune, J. P., Pruvo, J. P. HyperForm remodelling balloon for endovascular treatment of wide-necked intracranial aneurysms. *Am. J. Neuroradiol.*, 2004, 25, 1381–1383.
18. Shapiro, M., Babb, J., Becske, T., Nelson, P. K. Safety and efficacy of adjunctive balloon remodeling during endovascular treatment of intracranial aneurysms: a literature review. *Am. J. Neuroradiol.*, 2008, 29 (9), 1777–1781.
19. Mu, S., Yang, X., Li, Y., Zhang, Y., Lu, M., Wu, Z. Endovascular treatment of wide-necked intracranial aneurysms using “remodeling technique” with the HyperForm balloon. *Chinese Medical Journal*, 2008, 121 (8), 725–729.

Summary

Background. *Wide-neck aneurysms or aneurysms with a large neck/fundus ratio, especially if located on an arterial bifurcation or a small artery, are challenges for interventional neuroradiologist because of the risk of coil migration or coil protrusion into the parent vessels. Our study intended to compare the clinical and technical results of treatment of wide-neck aneurysm using the balloon remodeling technique.*

Materials and methods. *From 2004 to 2007, the 182 aneurysms were treated with endovascular coiling. In 52 (35%) cases balloon remodeling technique was used for treatment of wide-neck aneurysms.*

Results. *We found significant difference in neck-to-sac ratio in both subgroups – 0.68 against 0.76, respectively ($p < 0.05$). Results of aneurysm occlusion rate in both subgroups were equal. No thromboembolic or other serious events were observed during treatment. We did not find significant changes in the number of cases per year where remodeling technique was used.*

Conclusions. *The balloon remodeling technique is a very useful tool for treatment of wide-neck aneurysms or large neck/fundus ratio intracranial aneurysms. In our experience, this technique provided a safe and efficient treatment of difficult wide-neck aneurysms where the standard embolization technique might have failed. Remodeling technique is indicated for aneurysms with a neck size of over 4 mm and for aneurysms with the neck-to-sac ratio over 0.75.*

Keywords: *intracranial aneurysm coiling, balloon remodeling technique.*

**Juvenilā artrīta riska asociācija ar 14q13.2 reģiona
mikrosatelītu polimorfismu Latvijas populācijā**
*Association of Juvenile Idiopathic Arthritis with
Microsatellite Polymorphism of the 14q13.2 Region in
Latvian Population*

**Ingrīda Rumba-Rozenfelde¹, Ilva Trapiņa^{1,2}, Jelizaveta Sokolovska^{1,2,3},
Nikolajs Sjakste^{1,3}, Olga Sugoka² un Tatjana Sjakste²**

¹Medicīnas fakultāte, Latvijas Universitāte,
Šarlotes la, Rīga, LV-1001, Latvija

²Genomikas un bioinformātikas grupa, Latvijas Universitātes Bioloģijas institūts,
Salaspils, LV-2169, Latvija, e-pasts: tanja@email.lubi.edu.lv, tālr. 371 29716053

³Organiskās sintēzes institūts,
Aizkraukles 21, Rīga LV-1006, Latvija

14. hromosomas 14q reģionā atrodas daži nozīmīgi autoimūno traucējumu kandidātģēni. Vairāki genotipēšanas un asociācijas pētījumi liecina par ģenētisko saiti starp imūndeficītu un hromosomas reģioniem 14q11, 14q13, 14q23-24, 14q32. Daži proteasomu ģēni atrodas minētajā 14q lokusā. Iepriekšējos pētījumos mēs atklājām 14q13 mikrosatelītu (HSMS), ieskaitot *PSMA6* gēna mikrosatelītu (MS), polimorfisma asociāciju ar Greivsa slimību. Šajā pētījumā mēs meklējām pierādījumus 14q13.2 MS polimorfisma asociācijai ar juvenilā idiopātiskā artrīta (JIA) risku. 99 JIA gadījumu pacientu un 128 kontroles pacientu ģenētiskais materiāls tika genotipēts pēc pieciem HSMS, izmantojot fragmenta garuma analīzes metodi. MS motīva detaļas tika precizētas ar attiecīgā genoma reģiona tiešo sekvencēšanu. Mēs pirmie konstatējām, ka *C14orf24* gēna HSMS602 MS satur divus variablus komponentus, un to būtu jāapraksta kā $(CAA)_n(A)_m$ atkārtojumu.

$(AC)_5AT(AC)_n$ motīva HSMS701 marķieris (*KIAA0391* gēns) bija variabls tikai AS atkārtotajā 3' daļā. Jauni intronu SNP no *C14orf24* gēna ($A^{1279} \rightarrow G$) un *KIAA0391* gēna ($A^{28431} \rightarrow G$ un $A^{56980} \rightarrow T$) tika aprakstīti pirmo reizi. Alēļu frekvences gadījumu un kontroles grupās bija līdzīgas HSMS602, HSMS702, HSMS801 un HSMS006 marķieriem. Tomēr alēļu frekvences un genotipu sadalījums HSMS701 nozīmīgi atšķīrās JIA pacientiem un veseliem indivīdiem. Atšķirīgi bija arī HSMS801 un HSMS006 genotipi. Šie rezultāti liecina par to, ka JIA var būt asociēts ar dažām 14q13.2 reģiona intronu mikrosatelītu alēļēm/genotipiem, ieskaitot proteasomu *PSMA6* gēna MS. Šos MS variantus var uzskatīt par JIA riska faktoriem Latvijas populācijā.

Atslēgvārdi: juvenīlais idiopātiskais artrīts; mikrosatelīti; polimorfisms; *PSMA6*; *KIAA0391*

Ievads

Juvenīlais idiopātiskais artrīts (JIA, juvenīlais reimatoīdais artrīts) ir viena no visbiežākajām diagnozēm bērnu reimatoloģijā daudzās valstīs (Glass & Giannini, 1999). JIA klīniski izpaužas ar virkni heterogēnu fenotipu, kuriem kopīgā pazīme ir

hronisks iekaisuma sinovīts bērniem līdz 16 gadu vecumam. Balstoties uz klīniskām pazīmēm slimības sākumā, izšķir trīs JIA subtipus – poliartikulāro, paucartikulāro un sistēmisko JIA (Pralhad, 2006). Ģenētisko faktoru asociācija ar saslimšanas risku tika konstatēta vairākos gadījumu-kontroles pētījumos (Glass & Giannini, 1999; Pralhad, 2006). Ģenoma skenēšana atklāja JIA saistību ar HLA reģionu, papildu dati tika iegūti par JIA saistību ar 1p36, 19p13, un 20q13 (Thompson *et al.*, 2004). Tomēr zemas starpību attiecības vairākumam individuālo “JIA riska alēļu” rosina domāt, ka slimības attīstību ietekmē vēl neizprasta ģēnu mijiedarbība (Glass & Giannini, 1999). Tādējādi būtu ieteicams paplašināt JIA kandidātģēnu izpēti.

14. hromosomas 14q reģions šķiet perspektīvs šai izpētei, jo tajā atrodas daži iespējamie kandidātģēni. Par šī lokusa saistību ar autoimūnām slimībām jau ir ziņots (John & Worthington, 2001). Iespējamie kandidātģēni ir ģēni, kuri kodē kodola faktora kappa B inhibitoru (NFKBI) lokusā 14q13 (le Beau *et al.*, 1992), transkripcijas faktoru FOS lokusā 14q23, TGF-beta 3 lokusā 14q24, imūnoglobulīnu smago ķēžu lokusu 14q32.33 (Kamnasaran & Cox, 2002). 14q atrodas arī daži proteasomu ģēni, ieskaitot proteasomu aktivējošo subvienību 1 un 2 (PSME1 un PSME2, respektīvi) un proteasomu beta-tipa subvienību 5 (PSMB5) lokusā 14q11.2, proteasomu alfa tipa subvienību 6 (PSMA6) lokusā 14q13 un alfa tipa subvienību 3 (PSMA3) lokusā 14q23 (Chistyakov *et al.*, 2000). Pēdējā ģēnu grupa ir ļoti interesanta, jo ir ziņots par proteasomu proteīna LMP2 ģēna polimorfisma ietekmi uz saslimstību ar HLA-B27 asociēto JIA un tā smaguma pakāpi (Pryhuber *et al.*, 1996).

Iepriekš pētot iespējamo *PSMA6* ģēnā un tā tuvumā lokalizēto mikrosatelītu (MS) lomu ģenētiskajā uzņēmībā pret Greivsa slimību (Sjakste *et al.*, 2004) un 2. tipa diabētu (Sjakste *et al.*, 2007), mēs atklājām dažas asociācijas. MS ir īsi dinukleotīdu vai trinukleotīdu atkātojumi, kuri izkaisīti viscaur genomā un ir augsti polimorfi dažādos organismos. Ilgu laiku MS intensīvi izmantoja kā molekulāros marķierus. Mūsdienās tos uzskata par svarīgiem ģenoma funkcionālajiem elementiem; tas dod papildu impulsu turpināt asociācijas pētījumus par MS polimorfismiem. Ir zināms, ka daži MS veido piesaistes vietas kodola matriksam (Boulikas, 1993), dažos gadījumos MS veido audu specifiskas piesaistes vietas matriksam (Lenartowski & Goc, 2002). MS veido saistīšanās vietas ar vimentīnu un glijas fibrilāro skābo proteīnu (Tolstonog *et al.*, 2000). Vienkārši MS atkātojumi var kļūt par pamatu sarežģītām DNS telpiskām struktūrām ar lielu funkcionālu nozīmi (Tolstonog *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2003; Rothenburg *et al.*, 2001a,b). MS ir svarīgi insulatoru (Filippova *et al.*, 2001), sailenseru (Rothenburg *et al.*, 2001a, b) un enhanseru (Bassuny *et al.*, 2003) komponenti. MS ir iesaistīti arī alternatīvā splaisinga regulācijā (Hui *et al.*, 2005), mRNS stabilitātē (Lee *et al.*, 2004), rekombinācijā un atjaunošanā (Wang & Vasquez, 2007; Chin *et al.*, 2007). Minētie dati ierosina meklēt jaunas MS asociācijas ar slimībām. Šajā darbā mēs pētījām iespējamo 14q13.2 MS polimorfisma asociāciju ar JIA palielinātu risku.

Materiāli un metodes

Pacienti

Polimorfismus genotipēja gadījumos/kontrolēs (GAILIJA/BIĶERNIEKI pētījums). 99 GAILIJA pētījuma dalībniekiem (68 % sievietes) bija diagnosticēts JIA; grupa pārstāvēja apmēram 30 % Latvijā dzīvojošu pacientu ar šo diagnozi. 99 (57 %

sievietes) pacientus no Rīgas Biķernieku slimnīcas, kurus specificēja kā traumas pacientus, iesaistīja pētījumā BIĶERNIEKI kā kontroles indivīdus bez autoimūnām slimībām, lai novērtētu alēļu sadalījumu Latvijas populācijā. No pacientiem vai viņu vecākiem tika saņemta piekrišana piedalīties pētījumā; pētījums tika apstiprināts Latvijas Republikas Veselības ministrijas Centrālajā ētikas komisijā.

DNS izdalīšana un genotipēšana

DNS izdalīja, izmantojot kitu genoma DNS izdalīšanai no kodolu saturošām asins šūnām (Fermentas, Viļņa, Lietuva).

1. tabula

Informācija par praimeriem, amplificēto un sekvencēto fragmentu garumi un analizēto paraugu skaits

The primer information, sizes of amplified and sequenced fragments and the number of samples analyzed

Marķiera darba nosaukums	Reakcija	Tiešo (F) un atgriezenisko (R) praimeru sekvences	Amplificētais/ sekvencētais reģions (bp)	Sekvencēto paraugu skaits	
				JIA	Kontroles
HSMS602	PCR	F: 5'-CCTGGGTGCATTTTACACG- 3' R: 5'-TGAAAATGACGTGGCTTCCT- 3'	801/658	8	8
	Sekvencēšana	F: 5'-CATATCGCAGTTCTGGCTGA- 3' R: 5'-TCCCCTGAATCCCCTTCTTA- 3'			
HSMS701	PCR	F: 5'-AAAGGTCAGAATCATCCTTG- 3' R: 5'-CACCACAAGGGTAGGGATTTT- 3'	229/138	4	7
	Sekvencēšana	F: 5'-AAAGGTCAGAATCATCCTTG 3' R: 5'- CACCACAAGGGTAGGGATTTT -3'			
HSMS702	PCR	F: 5'-GTCAGTCTGCCCTACTTGG- 3 R: 5'-ACACGAAACGGGAAAATCTG- 3	915/800	7	4
	Sekvencēšana	F: 5'-CTACTCGGGGGTCAGGGAC- 3 R: 5'-CCCTGTATTGCAATCTTT- 3			
HSMS801	PCR	F: 5'-GCTGGGTAGGTATCCTGCAT-3' R: 5'-GTCCATTTGCATTGCTCAGA-3'	1013/ 861	9	7
	Sekvencēšana	F: 5'-ACAATTATGAAAGGACA-3' R: 5'-TACTAACCATATGTTTT-3'			
HSMS006	PCR	F: 5'-CCCAGCACCTGAGATCTGTT- 3' R: 5'- AACTGCCTCACAGGGCTG - 3'	518/290	10	4
	Sekvencēšana	F: 5'-AGGCCAATACAAATTCAATCCC-3' R: 5'-AACTGCCTCACAGGGCTG-3'			

Lai paplašinātu datus par MS motīvu un viena nukleotīda polimorfismiem (SNP), MS saturošos genoma reģionus amplificēja un sekvencēja, izmantojot *Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer*. Praimeru sekvences amplificēšanai un sekvencēšanai paraugu skaits un amplificēto un sekvencēto fragmentu garumi ir apkopoti 1. tabulā. PCR produktus MS fragmenta garuma noteikšanai amplificēja agrāk aprakstītajos PCR apstākļos, izmantojot publicētos HSMS praimerus (Sjakste *et al.* 2004, 2007). DNS fragmenti tika sadalīti kapilārajā elektroforēzē, izmantojot

ABI Prism® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). PCR fragmentu garums tika noteikts ar *ABI Prims Genotyper* (v. 3.7, Applied Biosystems) vai *Peak Scanner* (v.1.0, Applied Biosystems) programmatūru. MS atkārtojumu skaits tika noteikts, salīdzinot sekvencēšanas un fragmentu analīzes datus, un prezentēts kā atkārtojumu skaits visiem marķieriem, izņemot HSMS602.

Praimeri tika dizainēti ar *Primer 3.0* programmu, izmantojot informāciju par 14q13.2 sekvenci (NT_026437) no NCBI datubāzes. *KIAA0391* gēna ekspresijas grafiskais attēls tika iegūts no *EST Profile Viewer* no NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/UniGene/ESTProfileViewer.cgi?uglist=Hs.458487).

Datu analīze

Alēļu un genotipu frekvences tika novērtētas ar tiešo gēnu skaitīšanu. Atšķirības nozīmība starp grupām tika noteikta, izmantojot χ^2 testu ($P_a < 0,05$). Starpību attiecību (OR) un relatīvo risku (RR) izskaitļojām, izmantojot *MedCalc 3000* programmu (<http://medical3000.com/OddsRatio.htm>). Galveno izjaucošo faktoru korekciju un pakāpes analīzi ar vienpusīgu proporciju testu izskaitļojām ar SPSS un NCSS/PASS/GESS pārbaudes programmām. Koriģētās nozīmības pakāpes (P_b) izskaitļojām ar permutāciju analīzi, izmantojot PAST (*Palaeontological Statistics, ver. 1.63*) programmu.

Rezultāti

Reģiona polimorfismu īpatnības

MS motīva variabilitāte

Lai uzlabotu ticamību mūsu datiem, kuri iepriekš balstījās pārsvarā uz fragmentu garuma analīzi (Sjakste *et al.*, 2004, 2007), mēs pārbaudījām MS motīvus ar sekvencēšanu. Nelielā JIA pacientu un kontroles indivīdu grupā (1. tabula) MS atkārtojumus saturošos genoma reģionus amplificēja un sekvencēja, lai anotētu MS saturošā reģiona garuma viriabilitāti ar MS atkārtojuma sekvences variācijām. Mūsu dati liecina, ka HSMS702, HSMS801 un HSMS006 ir pārstāvēti ar vienkāršiem MS motīviem, kuri variē dinukleotīdu atkārtojumu skaitā (2. tabula). HSMS701 ir trīskomponentu MS ar motīvu $(AC)_n AT(AC)_m$. 11 sekvenču analīze (4 gadījumi un 7 kontroles, 1. tabula) parādīja, ka variē tikai MS 3' gala atkārtojamā daļa. Ņemot vērā šo faktu, HSMS701 Latvijas populācijā var aprakstīt kā $(AC)_5 AT(AC)_n$ motīvu. Sekvencēšanas un fragmentu garuma analīzes datu salīdzināšana HSMS701, HSMS702, HSMS801 un HSMS006 ļauj izsekot MS atkārtojumu skaitu un prezentēt fragmentu garuma noteikšanas datus kā atkārtojumu skaitu (2. tabula).

HSMS602 ir daudzkomponentu MS ar motīvu $(CAA)_n(A)_m$. 8 gadījumu un 8 kontroles indivīdu atbilstošo genoma reģionu sekvencēšanas analīze atklāja 8 alēļu variācijas, ieskaitot $(CAA)_7(A)_7$, $(CAA)_7(A)_8$, $(CAA)_8(A)_5$, $(CAA)_8(A)_6$, $(CAA)_8(A)_7$, $(CAA)_{10}(A)_7$, $(CAA)_{10}(A)_8$, $(CAA)_{11}(A)_5$, kas nozīmē, ka abi MS komponenti ir variabli pēc atkārtojumu skaita. MS alēles ar motīviem $(CAA)_7(A)_8$ un $(CAA)_8(A)_5$ dod vienu un to pašu iepriekš aprēķināto un eksperimentāli apliecināto fragmenta garumu (168 bp). HSMS602 struktūru Latvijas populācijā var prezentēt kā motīvu $(CAA)_{6-11}(A)_{5-8}$. Šim MS nav iespējams atkārtojumu skaita iepriekšējais aprēķins,

izmantojot tikai fragmenta garumu, un datus par MS alēlēm varēja prezentēt tikai kā fragmentu garumus (2. tabula).

2. tabula

HSMS alēļu frekvences kontroles indivīdiem un JIA pacientiem Latvijas populācijā
HSMS allele frequencies in healthy subjects and JIA patients in Latvian population

Lokuss	MS alēles	Alēļu frekvences (%)						Sagaidāmais/novērotais heterozigotātes indekss	
		Kontroles	JIA	P _a	P _b	OD	RR	Kontroles	JIA
HSMS602 Kontroles = 126 JIA = 96	167 bp	0,00	0,52	0,26	0,43	-	-	0,70/ 0,64	0,67/ 0,61
	168 bp	14,29	11,86	0,51	0,78	0,81	0,83		
	169 bp	48,02	52,06	0,62	0,68	1,18	1,08		
	170 bp	1,59	0,52	0,29	0,40	0,32	0,32		
	171 bp	17,86	14,95	0,49	0,53	0,81	0,84		
	177 bp	11,51	15,98	0,23	0,22	1,46	1,39		
	178 bp	6,75	4,12	0,26	0,30	0,59	0,61		
HSMS701* Kontroles = 127 JIA = 96	(AC) ₅ AT(AC) ₁₄	0,39	0,52	0,84	0,51	1,32	1,32	0,76/ 0,70	0,74/ 0,82
	(AC) ₅ AT(AC) ₁₆	21,26	22,40	0,82	0,73	1,07	1,05		
	(AC) ₅ AT(AC) ₁₇	12,99	17,71	0,24	0,24	1,44	1,36		
	(AC) ₅ AT(AC) ₁₈	7,09	5,73	0,59	0,70	0,80	0,81		
	(AC) ₅ AT(AC) ₁₉	36,61	40,10	0,62	0,65	1,16	1,10		
	(AC) ₅ AT(AC) ₂₀ *	18,90	10,94	0,047*	0,035*	0,53	0,58		
	(AC) ₅ AT(AC) ₂₁	2,36	2,08	0,85	0,75	0,88	0,88		
(AC) ₅ AT(AC) ₂₂	0,39	0,52	0,84	0,51	1,32	1,32			
HSMS702 Kontroles = 128 JIA = 97	(TG) ₁₀	1,56	1,03	0,63	0,41	0,66	0,66	0,62/ 0,75	0,57/ 0,61
	(TG) ₁₁	52,73	58,25	0,53	0,52	1,25	1,10		
	(TG) ₁₂	32,03	29,38	0,66	0,70	0,88	0,92		
	(TG) ₁₃	1,56	1,03	0,63	0,41	0,66	0,66		
	(TG) ₁₄	3,13	2,58	0,74	0,57	0,82	0,82		
	(TG) ₁₈	2,73	2,58	0,92	0,77	0,94	0,94		
	(TG) ₂₀	0,39	0,00	0,38	1,00	-	-		
	(TG) ₂₁	0,78	0,00	0,22	0,50	-	-		
	(TG) ₂₂	0,39	1,55	0,20	0,32	4,01	3,96		
	(TG) ₂₄	1,56	0,52	0,30	0,40	0,33	0,33		
	(TG) ₂₅	3,13	2,58	0,74	0,57	0,82	0,82		
(TG) ₂₆	0,00	0,52	0,25	0,43	-	-			

HSMS801 Kontroles = 128 JIA = 97	(AC) ₁₂	0,00	0,51	0,25	0,43	-	-	0,83/ 0,76	0,84/ 0,87
	(AC) ₁₅	5,47	5,10	0,87	0,83	0,93	0,93		
	(AC) ₁₇	14,84	15,82	0,81	0,80	1,08	1,07		
	(AC) ₁₈	0,39	0,51	0,85	0,51	1,31	1,31		
	(AC) ₁₉	2,34	1,53	0,55	0,51	0,65	0,65		
	(AC) ₂₀	9,77	7,14	0,37	0,41	0,71	0,73		
	(AC) ₂₁	33,59	27,55	0,32	0,33	0,75	0,82		
	(AC) ₂₂	11,72	17,86	0,11	0,11	1,64	1,52		
	(AC) ₂₃	5,86	5,10	0,74	0,84	0,86	0,87		
	(AC) ₂₄	3,52	3,57	0,98	1,00	1,02	1,02		
	(AC) ₂₅	7,03	9,69	0,35	0,31	1,42	1,38		
	(AC) ₂₆	2,73	2,04	0,64	0,54	0,74	0,75		
	(AC) ₂₇	2,34	2,55	0,89	1,00	1,09	1,09		
(AC) ₂₈	0,39	1,02	0,42	0,58	2,63	2,61			
HSMS006 Kontroles = 126 JIA = 99	(TG) ₁₈	21,03	23,23	0,65	0,74	1,14	1,10	0,80/ 0,84	0,81/ 0,83
	(TG) ₁₉	19,84	20,71	0,85	0,81	1,06	1,04		
	(TG) ₂₀	3,57	7,07	0,11	0,09	2,05	1,98		
	(TG) ₂₁	26,19	22,73	0,51	0,46	0,83	0,87		
	(TG) ₂₂	18,65	15,66	0,48	0,46	0,81	0,84		
	(TG) ₂₃	8,33	8,08	0,93	0,87	0,97	0,97		
	(TG) ₂₄	1,98	2,53	0,71	0,76	1,28	1,27		
	(TG) ₂₅	0,40	0,00	0,38	1,00	-	-		

P_a – nozīmības pakāpi izskaitļoja pēc χ^2 kritērija

P_b – koriģētās nozīmības pakāpi izskaitļoja, izmantojot 10000 permutācijas

* – statistiski nozīmīga atšķirība starp gadījumu un kontroles grupām ($P < 0,05$)

P_a – significance level calculated according the on χ^2 criterion

P_b – corrected significance levels calculated using 10000 permutations

* – statistically significant difference between the case and control groups ($P < 0.05$)

Agrāk nezināmo reģiona SNP aprakstīšana

Iepriekš minētie rezultāti norādīja uz iespējamo nezināmo SNP iesaistīšanos MS motīvos. Šis pieņēmums mudināja pārbaudīt interesējošā reģiona SNP mūsu paraugos. Pēc NCBI SNP datubāzes bija sagaidāmi septiņi SNP reģionos pie HSMS602, HSMS702 un HSMS801 (3. tabula). Analizētajos gadījumu un kontroles paraugos mēs neatklājām polimorfismu *rs12885486*, *rs1955439*, *rs12147502* un *rs12147993* lokusus. Iepriekš atklātie SNP tika konstatēti *rs7142230*, *rs7142246* un *rs7143346* lokusus. Iepriekš nezināmās variācijas A¹²⁷⁹→G (lejup no HSMS602) *C14orf24* gēnā un A²⁸⁴³¹→G un A⁵⁶⁹⁸⁰→T (augšup no HSMS702) *KIAA0391* gēnā ir atklātas Latvijas populācijā, un šeit par tām tiek ziņots pirmo reizi (3. tabula). Tika konstatēts, ka alēļu frekvences (3. tabula) un genotipu sadalījums (nav parādīts) atšķiras dažādiem lokusiem, bet ir līdzīgi gadījumiem un kontrolēm pēc viena un tā paša lokusa. Rajonos ap HSMS701 un HSMS006 polimorfismi netika konstatēti.

Jaunatklāto un iepriekš aprakstīto SNP alēļu frekvences
Allele frequencies of the newly described and previously reported SNPs

Gēns/ funkcija	HSMS/pozīcija	Sekvences numurs		SNP	Kārtas numurs	Izplatīto alēļu frekvence		
		gadījumi	kontroles			Iepriekš aprakstīta	Dotajā pētījumā	
							Gadījumi	Kontroles
C14orf24/ I introns	HSMS602 G ¹²²¹ MSC ¹²⁶¹	8	8	G ⁹²⁵ →A	rs12885486	Nav datu	1	1
		8	8	T ¹⁰⁶⁰ →A	rs1955439	Nav datu	1	1
		8	8	A ¹²⁷⁹ →G		Nav datu	0.63	0.69
KIAA0391/ III introns	HSMS702 C ⁵⁷²⁸¹ MST ⁵⁷³⁰⁶	7	7	T ²⁸³⁹⁴ →C	rs12147502	Nav datu	1	1
		7	7	C ²⁸³⁹⁶ →T	rs12147993	Nav datu	1	1
		7	7	A ²⁸⁴³¹ →G	Jaunatklāts	Nav datu	0.93	1
		7	3	A ⁵⁶⁹⁸⁰ →T	Jaunatklāts	Nav datu	0.71	0.75
		7	4	T ⁵⁷⁰⁴⁹ →C	rs7142230	Nav datu	0.71	0.5
		7	4	C ⁵⁷⁰⁷⁶ →T	rs7142246	Nav datu	0.86	1
KIAA0391/ IV introns	HSMS801 A ¹⁰⁷⁶⁹³ MSC ¹⁰⁷⁷³⁵	2	3	T ¹⁰⁸¹¹ →C	rs7143346	0.2 ÷ 0.925	1	0.5

Piezīme: Numerācija dota no atbilstošā gēna pirmā ATG (Gene Bank: NT_026437). Šajā pētījumā visbiežāk sastopamās alēles ir iezīmētas ar trekno šriftu. Iepriekš aprakstītās alēļu frekvences ir parādītas atbilstoši NCBI SNP datubāzes datiem.

Note: Numbering is given from the first ATG of the corresponding gene (Gene Bank: NT_026437). Allele common in current study is indicated in bold. Previously reported allele frequencies are indicated according to the SNP database at NCBI

Alēļu analīze

3. tabulā ir apkopotas alēļu frekvences JIA pacientiem un kontroles indivīdiem. Visu pētīto MS alēļu sadalījums ir līdzīgs iepriekš aprakstītajam Latvijas populācijā (Sjakste *et al.*, 2004; 2007). HSMS702 marķieris ir pārstāvēts ar 12 alēlēm diapazonā no 12 līdz 26 TG atkārtojumiem. (TG)₁₁ un (TG)₁₂ ir visbiežāk sastopamās alēles abās grupās. HSMS801 tika konstatētas 14 alēles, no (AC)₁₂ līdz (AC)₂₈ ar diviem maksimumiem: (AC)₁₇ un (AC)₂₁. HSMS006 MS bija pārstāvēts ar 8 alēlēm no (TG)₁₈ līdz (TG)₂₅ ar diviem maksimumiem: (TG)₁₈ un (TG)₂₁. HSMS602 marķiera ārkārtīgi sarežģītās struktūras dēļ, ko agrāk uzskatīja par parastu trinukleotīdu atkārtojumu (Sjakste *et al.*, 2004; 2007), nebija iespējams izsekot atkārtojumu skaitam pēc fragmentu garuma, tādējādi 3. tabulā šī marķiera alēles ir parādītas kā fragmenta garumi ar septiņām alēlēm no 167 bp līdz 169 bp garumā. 169 bp fragments ir visbiežāk sastopamais gadījumu un kontroles grupās. Šiem marķieriem netika konstatēta nozīmīga atšķirība starp gadījumu un kontroles grupām ne pēc pārstāvētām alēlēm, ne pēc to frekvencēm.

Visinteresantākie dati tika atklāti par marķieri HSMS701. Tas bija pārstāvēts ar 8 alēlēm, kuras atšķīrās pēc 3' gala AC atkārtojamās daļas. Šī marķiera alēļu frekvenču sadalījums gadījumu un kontroles grupās bija līdzīgs maksimumiem (AC)₅AT(AC)₁₆ un (AC)₅AT(AC)₁₉ alēlēs. Tomēr (AC)₅AT(AC)₂₀ alēle bija gandrīz divreiz biežāk sastopama kontroles indivīdiem salīdzinājumā ar JIA pacientiem (18,90 % pret

10,94 %; $P_a = 0,047$; $OR = 0,53$). Permutāciju analīze apstiprināja mūsu rezultātu nozīmību ($P_b = 0,035$ pēc 100 000 permutācijām). Tādējādi HSMS 701 marķiera $(AC)_5AT(AC)_{20}$ alēle izrādījās asociēta ar JIA samazinātu risku.

Genotipu analīze

4. tabulā ir apkopoti dati par genotipiem, kuru sadalījums statistiski nozīmīgi atšķiras starp grupām. Prezentēto genotipu un to frekvenču analīze atklāja nozīmīgu atšķirību starp gadījumu un kontroles grupām, ko nevarēja izsekot pēc alēļu sadalījuma. Pirmkārt, HSMS701 $(AC)_5AT(AC)_{20}/(AC)_5AT(AC)_{20}$ homoizgotas nekonstatēja JIA pacientu grupā, neskatoties uz diezgan augstu $(AC)_5AT(AC)_{20}$ alēles frekvenci gadījumu grupā. Kontroles grupā $(AC)_5AT(AC)_{20}/(AC)_5AT(AC)_{20}$ homoizgotu frekvence bija 4,72 %, kas apstiprina mūsu atradni par alēles $(AC)_5AT(AC)_{20}$ asociāciju par JIA samazinātu risku. Turpretī $(AC)_5AT(AC)_{17}/(AC)_5AT(AC)_{19}$ genotipu atrada 25 % JIA pacientu, tas bija trīs reizes retāk sastopams kontroles indivīdiem ($OD = 3,90$, $RR = 3,18$). HSMS801 $(AC)_{17}/(AC)_{22}$ un HSMS006 $(TG)_{18}/(TG)_{20}$ genotipus konstatēja aptuveni četras un piecas reizes biežāk attiecīgi gadījumu grupā, salīdzinot ar kontrolēm ar augstām starpību attiecībām un relatīvā riska vērtībām ($OD = 4,79$, $RR = 4,40$ HSMS801 marķierim un $OD = 8,06$, $RR = 7,64$ HSMS006 marķierim, 4. tabula), un neskatoties uz attiecīgo alēļu līdzīgām frekvencēm gadījumu un kontroles grupās (2. tabula). Turpretī HSMS006 $(TG)_{18}/(TG)_{21}$ un $(TG)_{22}/(TG)_{23}$ genotipus atrada biežāk kontroles grupā, salīdzinot ar JIA pacientiem. Tomēr OD un RR vērtības šiem genotipiem bija diezgan zemas.

4. tabula

Genotipi, kuru frekvences statistiski nozīmīgi atšķirās kontrolēm un JIA gadījumiem Latvijas populācijā

Genotype frequencies that significantly differed in healthy subjects and JIA patients in Latvian population

Lokuss	Genotips	Genotipu frekvences (%)					
		Kontroles	JIA	P_a	P_b	OD	RR
HSMS701	$(AC)_5AT(AC)_{17}/(AC)_5AT(AC)_{19}$	7,87	25,00	0,003	0,003	3,90	3,18
	$(AC)_5AT(AC)_{20}/(AC)_5AT(AC)_{20}$	4,72	0,00	0,035	0,038	-	-
HSMS801	$(AC)_{15}/(AC)_{20}$	0,00	3,09	0,048	0,086	-	-
	$(AC)_{17}/(AC)_{22}$	2,34	10,31	0,017	0,022	4,79	4,40
	$(AC)_{17}/(AC)_{27}$	0,00	3,09	0,048	0,086	-	-
HSMS006	$(TG)_{18}/(TG)_{20}$	0,79	6,06	0,029	0,015	8,06	7,64
	$(TG)_{18}/(TG)_{21}$	16,67	5,05	0,015	0,021	0,27	0,30
	$(TG)_{18}/(TG)_{24}$	0,00	4,04	0,026	0,038	-	-
	$(TG)_{22}/(TG)_{23}$	7,14	1,01	0,033	0,019	0,13	0,14

P_a – nozīmības pakāpi izskaitļoja pēc χ^2 kritērija

P_b – koriģētās nozīmības pakāpi izskaitļoja, izmantojot 10000 permutācijas

P_a – significance level calculated according to the χ^2 criterion

P_b – corrected significance levels calculated using 10000 permutations

Diskusija

JIA ir trešā patoloģija pēc Greivsa slimības (Sjakste *et al.*, 2004) un 2. tipa cukura diabēta (Sjakste *et al.*, 2007), ko mēs pētām sakarā ar 14q MS marķieru polimorfismiem. Dažādu pētījumu salīdzināšana dod lielisku iespēju novērtēt datu ticamību un izslēgt gadījuma asociācijas. Šķiet, ka risks būt uzņēmīgam vai rezistentam pret attiecīgo patoloģiju ir asociēts ar specifiskām alēlēm katrā gadījumā. Palielināta HSMS006 (TG)₂₂ alēles frekvence ir raksturīga 2. tipa diabētam (Sjakste *et al.*, 2007), un tas ir pierādīts gan Latvijas, gan Somijas populācijās. Divu autoimūno slimību – Greivsa slimības un JIA – salīdzināšana atklāj specifiskas asociācijas katrai no slimībām. Greivsa slimībai HSMS801 marķiera (AC)₁₂ un (AC)₂₀ alēles, kā arī HSMS006 marķiera (TG)₁₉ alēle tika atklātas kā biežāk sastopamās salīdzinājumā ar kontrolēm. Turpretī HSMS006 marķiera (TG)₂₁ un (TG)₂₃ alēles bija biežāk pārstāvētas kontroles grupā (Sjakste *et al.*, 2004). No šīm atšķirībām nevienam nenovēroja JIA gadījumu/kontroles pētījumā, bet tika atklāts, ka HSMS701 (AC)₅AT(AC)₂₀ alēle ir asociēta ar JIA attīstības samazinātu risku. Apvienojot datus par abām slimībām, varam apliecināt iepriekš iegūtos datus (John & Worthington, 2001) par 14q reģiona asociāciju ar autoimūnām slimībām.

Daudzi pētnieki ir ļoti skeptiski attiecībā pret genotipu frekvenču analīzi; pastāv uzskats, ka genotips vienkārši summē alēļu sadalījumu. Mūsu pētījums pierādīja nozīmīgas atšķirības genotipu sadalījumā starp gadījumu un kontroles grupām, ko nevarēja secināt no alēļu frekvencēm. Iespējams, ka HSMS701 marķiera (AC)₅AT(AC)₂₀/(AC)₅AT(AC)₂₀ homozigotu trūkums JIA pacientiem ir vienīgais novērotais fakts, kas saskan ar alēļu sadalījumu. Citu HSMS701 alēļu sadalījumā, kā arī visām atklātajām HSMS801 un HSMS006 marķieru alēlēm atšķirības nenovēroja. Tomēr dažas šo MS genotipu frekvences atšķirās gadījumu un kontroles grupās ar augstām OD un RR vērtībām.

Sakarā ar MS polimorfismu ietekmes mehānismiem uz JIA attīstību HSMS006 marķiera gadījumā, kas atrodas proteasomu *PSMA6* gēna intronā, mēs varam domāt par šī polimorfisma izraisītām gēna ekspresijas modifikācijām, kuras varētu novest pie patoloģijas attīstības. Sākotnēji JIA izvēlējas šim pētījumam, balstoties uz hipotētisku nenormālas proteasomālo proteīnu degradācijas nozīmi slimības patoģenēzē. Ir konstatēta autoimūno slimību asociācija ar “imūnajiem” LMP2 un LMP7 proteasomu proteīnu gēniem. Daži pētījumi liecina par šo gēnu noteiktu alēļu asociāciju ar 1. tipa diabētu (Deng *et al.*, 1995), ankilējošo spondilītu (Maksymowicz & Russel, 1995), pieaugušo reimatoīdo artrītu (Maksymowich *et al.*, 1995), juvenilo idiopātisko artrītu (Pryhuber *et al.*, 1996) un Greivsa slimību (Heward *et al.*, 1999). Tiek uzskatīts, ka ar patoloģiju asociētās alēles nenodrošina LMP proteīnu pietiekamu produkciju, tas noved pie proteasomu funkcijas traucējumiem, kuri izpaužas kā transkripcijas faktora NF-κB veidošanās samazinājums un šūnu uzņēmības palielināšanās pret audzēju nekrozes faktoru alfa (Hayashi & Faustman, 2000). Ja šis pieņēmums ir pareizs, mēs varam proponēt hipotēzi, ka jebkāda proteasomu proteīna nepietiekama ekspresija varētu izraisīt tādu pašu efektu. Acīmredzot daži MS polimorfismi *PSMA6* gēnā ir asociēti ar autoimūniem procesiem. Šie polimorfismi var ietekmēt gēna ekspresiju, modificējot enhanseru aktivitāti (Bassuny *et al.*, 2003), mainot asociāciju ar kodola

matriksu (Boulikas *et al*, 1993), mainot alternatīvā splaisinga variantus (Hui *et al*, 2005) vai ietekmējot mRNS stabilitāti (Lee *et al.*, 2004).

Nevar izslēgt arī citus mehānismus (sk. Ievadu). Ir nepieciešami papildu pētījumi, lai atbildētu uz šo jautājumu. Citu marķieru asociācijas mehānismus ar slimību ir pat grūtāk izskaidrot, jo tiem tuvu esošā *KIAA0391* gēna funkcijas joprojām nav zināmas. Tomēr *Expression Profile Viewer* dati norāda uz to, ka šī gēna ekspresijas augstākais līmenis tiek novērots bērnībā, tādējādi iespējams, ka šī gēna ekspresijas traucējumi varētu novest pie šī vecuma raksturīgajām patoloģijām, ieskaitot JIA.

Pateicības

Šī darba izmaksas daļēji tika segtas no Latvijas Zinātnes padomes granta Nr. 05.1399 (piešķirts T. Sjakstei) un no Nacionālās pētījumu programmas “Latvijas iedzīvotāju dzīvildzi un dzīves kvalitāti apdraudošo galveno patoloģiju zinātniska izpēte ar multidisciplināra pētnieciskā konsorcijs palīdzību” projekta “Bērnu mirstību un invaliditāti ietekmējošo slimību mūsdienīgu agrīnās diagnostikas, profilakses un terapijas pasākumu izstrāde” (vadītāja – I. Rumba). I. Trapiņa stipendijas veidā saņēma atbalstu no Eiropas Savienības ESF programmas.

Atsauces

1. Boulikas, T. Nature of DNA sequences at the attachment regions of genes to the nuclear matrix. *Journal of Cellular Biochemistry*, 1993, **52**, 14.
2. Chin, J. Y., Schleifman, E. B. & Glazer, P. M. Repair and recombination induced by triple helix DNA. *Frontiers of Bioscience*, 2007, **12**, 4288.
3. Chistyakov, D. A., Savost'anolov, K. V., Turakulov, R. I. & Nosikov, V. V. Genetic determinants of Graves disease. *Molecular Genetics and Metabolisms*, 2000, **71**, 66.
4. Deng, G. Y., Muir, A., Maclaren, N. K. & She, J. X. Association of LMP2 and LMP7 genes within the major histocompatibility complex with insulin-dependent diabetes mellitus: population and family studies. *American Journal of Human Genetics*, 1995, **56**, 528.
5. Filippova, G. N., Thienes, C. P., Penn, B. H., Cho, D. H., Hu, Y. J., Moore, J. M., Klesert, T. R., Lobanenkova, V. V. & Tapscott, S. J. CTCF-binding sites flank CTG/CAG repeats and form a methylation-sensitive insulator at the DM1 locus. *Nature Genetics*, 2001, **28**, 335.
6. Hayashi, T. & Faustman, D. Defective function of the proteasome in autoimmunity: involvement of impaired NF-kappaB activation. *Diabetes Technology and Therapy*, 2000, **2**, 415.
7. Heward, J. M., Allhabadia, A., Sheppard, M. C., Barnett, A. H., Franklyn, J. A. & Gough, S. C. Association of the large multifunctional proteasome (LMP2) gene with Graves disease is a result of linkage disequilibrium with the HLA haplotype DRB1*034-DQB1*02-DQA1*0501. *Clinical Endocrinology (Oxford)*, 1999, **51**, 115.
8. Hui, J., Hung, L. H., Heiner, M., Schreiner, S., Neumüller, N., Reither, G., Haas, S. A. & Bindereif, A. Intronic CA-repeat and CA-rich elements: a new class of regulators of mammalian alternative splicing. *EMBO Journal*, 2005, **24**, 1988.
9. John, S. & Worthington, J. Genetic epidemiology. Approaches to the genetic analysis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Research*, 2001, **3**, 216.
10. Kamnasaran, D. & Cox, D.W. Current Status of Human Chromosome 14. *Journal of Medical Genetics*, 2002, **39**, 81.

11. Le Beau, M. M., Ito, C., Cogswell, P., Espinosa, R. 3rd, Fernald, A. A. & Baldwin, A. S. Chromosomal localization of the genes encoding the p50/p105 subunits of NF-kappa B (NFKB2) and the I kappaB/MAD-3 (NFKBI) inhibitor of NF-kappa B to 4q24 and 14q13, respectively. *Genomics*, 1992, **14**, 529.
12. Lee, J. H., Jeon, M. H., Seo, Y. J., Lee, Y. J., Ko, J. H., Tsujimoto, Y. & Lee, J. H. CA repeats in the 3'-untranslated region of bcl-2 mRNA mediate constitutive decay of bcl-2 mRNA. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, **279**, 42758.
13. Lenartowski, R. & Goc, A. Tissue-specific association of the human tyrosine hydroxylase gene with the nuclear matrix. *Neuroscience Letters*, 2002, **330**, 151.
14. Li, G., Tolstonog, G. V. & Traub, P. Interaction in vitro of type III intermediate filament proteins with Z-DNA and B-Z-DNA junctions. *DNA Cell Biology*, 2003, **22**, 141.
15. Maksymowych, W. P. & Russel, A. S. Polymorphism in the LMP2 gene influences the relative risk for acute anterior uveitis in unselected patients with ankylosing spondylitis. *Clinical Investigation Medicine*, 1995, **18**, 42.
16. Maksymowych, W. P., Tao, S., Luong, M., Suarez-Almazor, M., Nelson, R., Pazderka, F. & Russell, A. S. Polymorphism in the LMP2 and LMP7 genes and adult rheumatoid arthritis: no relationship with disease susceptibility or outcome. *Tissue Antigens*, 1995, **46**, 136.
17. Prahalad, S., Kingsbury, D. J., Griffin, T. A., Cooper, B. L., Glass, D. N., Maksymowych, W. P. & Colbert, R. A. Polymorphism in the MHC-encoded LMP7 gene: association with JRA without functional significance for immunoproteasome assembly. *Journal of Rheumatology*, 2001, **28**, 2320.
18. Pryhuber, K. G., Murray, K. J., Donnelly, P., Passo, M. H., Maksymowych, W. P., Glass, D. N., Giannini, E. H. & Colbert, R. A. Polymorphism in the LMP2 gene influences disease susceptibility and severity in HLA-B27 associated juvenile rheumatoid arthritis. *Journal of Rheumatology*, 1996, **23**, 747.
19. Rothenburg, S., Koch-Nolte, F. & Haag, F. DNA methylation and Z-DNA formation as mediators of quantitative differences in the expression of alleles. *Immunology Reviews*, 2001, **184**, 286.
20. Rothenburg, S., Koch-Nolte, F., Rich, A. & Haag, F. A. Polymorphic dinucleotide repeat in the rat nucleolin gene forms Z-DNA and inhibits promoter activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2001, **98**, 8985.
21. Sjakste, T., Eglite, J., Sochnevs, A., Marga, M., Pirags, V., Collan, Y. & Sjakste, N. Microsatellite genotyping of chromosome 14q13.2-14q13 in the vicinity of proteasomal gene PSMA6 and association with Graves' disease in the Latvian population. *Immunogenetics*, 2004, **56**, 238.
22. Sjakste, T., Kalis, M., Poudziunas, I., Pirags, V., Lazdins, M., Groop, L. & Sjakste, N. Association of microsatellite polymorphisms of the human 14q13.2 region with type2 diabetes mellitus in Latvian and Finnish populations. *Annals of Human Genetics*, 2007, **71**, 772.
23. Thompson, S. D., Moroldo, M. B., Guyer, L., Ryan, M., Tombragel, E. M., Shear, E. S., Prahalad, S., Sudman, M., Keddache, M. A., Brown, W. M., Giannini, E. H., Langefeld, C. D., Rich, S. S., Nichols, W. C. & Glass, D. N. A genome-wide scan for juvenile rheumatoid arthritis in affected sibpair families provides evidence of linkage. *Arthritis Rheumatism*, 2004, **50**, 2920.
24. Tolstonog, G.V., Li, G., Shoeman, R.L. & Traub, P. Interaction in vitro of type III intermediate filament proteins with higher order structures of single-stranded DNA, particularly with G-quadruplex DNA. *DNA Cell Biology*, 2005, **24**, 85.

25. Tolstonog, G. V., Wang, X., Shoeman, R. & Traub, P. Intermediate filaments reconstituted from vimentin, desmin, and glial fibrillary acidic protein selectively bind repetitive and mobile DNA sequences from a mixture of mouse genomic DNA fragments. *DNA Cell Biology*, 2000, **19**, 647.
26. Wang, G. & Vasquez, K. M. Z-DNA, an active element in the genome. *Frontiers of Bioscience*, 2007, **12**, 4424.

Summary

Chromosome 14q region is important in research on immune diseases. Many studies have found evidence of genetic linkage between immunodeficiency and 14q11, 14q13, 14q23–24, and 14q32. There is some evidence on the possible role of proteasome gene polymorphism in autoimmune diseases. Proteasome genes are located at loci 14q. Association between 14q13 microsatellite (HSMS) polymorphism, including microsatellite (MS) of PSMA6 gene, and Graves' disease was discovered in our previous studies. In the present study, association of 14q13.2 MS polymorphism with increased risk of juvenile idiopathic arthritis (JIA) was investigated. 99 JIA cases and 128 controls were genotyped for the five HSMS by the size fragment analysis. Extra data about MS motif were obtained by direct sequencing. We showed for the first time that the HSMS602 MS of C14orf24 gene contains two variable components and should be described as (CAA)_n(A)_m repetition. HSMS701 marker (KIAA0391 gene) of (AC)₅AT(AC)_n motif was variable only in the 3' repeated MS portion. We have described for the first time new intronic SNPs A¹²⁷⁹→G of C14orf24 gene, and A²⁸⁴³¹→G and A⁵⁶⁹⁸⁰→T of KIAA0391 gene. In cases and controls, allele frequencies did not differ for HSMS602, HSMS702, HSMS801, and HSMS006. However, the allele frequency and genotype distribution of HSMS701 were significantly different between JIA patients and healthy individuals, as were the genotype distributions of HSMS801 and HSMS006. To conclude, JIA could be associated with several alleles/genotypes of the 14q13.2 intronic microsatellites, including MS of the proteasomal PSMA6 gene that can be considered as risk factors for JIA in Latvian population.

Keywords: juvenile idiopathic arthritis, microsatellites, polymorphism, PSMA6, KIAA0391.

Reģionālās anestēzijas kvalitātes monitorings un tā optimizācija

Quality Control of Regional Anesthesia and Optimisation of the Monitoring

Aleksejs Miščuks^{1,2,4}, Tālis Kauliņš^{2,4}, Edgars Vasiļevskis³,
Māris Mihelsons⁴

¹ Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīca / *Hospital of Traumatology and orthopedics*
aleksejmiscuks@gmail.com, +371 29483622

² Latvijas Jūras medicīnas centrs / *Latvian Maritime Medicine Centre*

³ Rīgas Stradiņa universitāte / *Riga Stradins University*

⁴ Latvijas Universitāte / *University of Latvia*

Reģionālās anestēzijas (RA) gadījumā, ja pacients nav kooperatīvs, nav adekvāts vai atrodas vispārējā anestēzijā (VA), joprojām nepastāv standarta vadlīnijas objektīvai RA kvalitātes/esamības noteikšanai. Autori mēģina atrast vienkāršu un viegli pieejamu objektīvo RA monitoringa papildinājumu, jo pieejamā literatūrā dati par šo problēmu atšķiras.

Tiek pieļauta iespēja atrast statistiski ticamu korelāciju starp perifēriskā bloka pakāpi/esamību un ādas temperatūru pēc RA. Prospektīvā pētījumā tiek analizēti ādas temperatūras izmaiņu dati pēc RA (55 plānveida pacienti vecumā no 17 līdz 85 gadiem ar anestēzijas riskiem pēc ASA 1–3, kuriem bija paredzētas traumatoloģiskas un ortopēdiskas operācijas augšējai ekstremitātei bez asinsvadu specifiskas patoloģijas). Konstatēts temperatūras izmaiņu grafika nelineārais raksturs. Pēc veiksmīgas RA ādas temperatūra paaugstinās. Pie adekvātas (izdevušās) anestēzijas vidēji temperatūras starpība ir (ΔT_1°) $1,4729 \pm 0,9769$ °C. Pie neadekvātas (neizdevušās) anestēzijas vidēji: ΔT_2° ir $0,05 \pm 0,410575$ °C. Veicot statistisko datu apstrādi, vērojama statistiski ticama atšķirība temperatūras izmaiņās pētījuma un kontroles grupās ($p < 0,001$).

Atslēgvārdi: reģionāla anestēzija (RA); vispārēja anestēzija (VA); lokālie anestētiķi (LA), perifēro nervu stimulācija (PNS), ΔT° – temperatūras starpība

Hipotēze

Pēc adekvātas reģionālās anestēzijas, pieaugot simpātiskajam blokam, pieaug arī asins plūsma perifērijas vazodilatācijas rezultātā, kas izraisa nelielas ādas temperatūras izmaiņas. Pieļāvām, ka iespējams atrast statistiski ticamu korelāciju starp perifēriskā bloka esamību un ādas temperatūras izmaiņām pēc RA.

Ievads

Daudzi anesteziologi, kuri strādā ar reģionālo anestēziju, ikdienā saskaras ar problēmu: kad pacients nav kooperatīvs, nav adekvāts vai atrodas vispārējā anestēzijā, joprojām nepastāv objektīva metode RA kvalitātes vai esamības noteikšanai.

Apsverot minēto problēmu, secinājām, ka nepieciešama papildu izpēte RA izraisītām temperatūras izmaiņām, jo tā rada simpātisko blokādi ar sekojošu vazodilatāciju, kura izraisa ādas temperatūras paaugstināšanos, taču literatūrā dati par šo problēmu atšķiras. Temperatūras izmaiņas (gan ādas, gan serdes) kolēģi analizējuši arī pie citiem anestēzijas veidiem, stāvokļiem. M. F. Stevens 2006. gadā salīdzināja 33 gadījumus kombinēto *femoral* un *sciatic* nervu blokus ar 10 centrālām neuroaksiālām anestēzijām. Konstatēta lēna ādas temperatūras paaugstināšanās pēc *sciatic* nerva bloka, pie *femoral* nerva bloka temperatūras izmaiņas ir $<1\text{ }^{\circ}\text{C}$, turpretim $\geq 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ pie epidurālas anestēzijas un *sciatic* nerva bloka. Izdarīti secinājumi par metodes zemu praktiskumu (2). S. Franks, analizējot temperatūras izmaiņas 18 gadījumos pēc simpātiskā bloka apakšējai ekstremitātei un 13 gadījumos pēc epidurālajām anestēzijām, atzīmēja temperatūras izmaiņu atšķirīgu iestāšanās ātrumu abu bloku gadījumā. Epidurālas anestēzijas gadījumā temperatūra paaugstinās par $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ pēc 17 minūtēm, salīdzinot ar 11 minūtēm simpātiskā bloka gadījumā, par 50 % no T_{\max} : 25 un 17 min un par 95 % no T_{\max} : 40 un 31 min katrā (9). 1992. gadā analizēti trīs gadījumi pie totāla spināla bloka (T. Kimura). Tika kontrolētas izmaiņas ādas temperatūrā un asins plūsmā, konstatēta plūsmas samazināšanās pie ekstensīva simpātiskā bloka (3). Pētījumos ar dažādu pacientu skaitu un atšķirīgiem secinājumiem par metodes praktisku pielietojamību tomēr viennozīmīgi konstatētas temperatūras izmaiņas pēc simpātiskas blokādes. RA pozitīvam iznākumam izmantojami arī citi parametri, tādi kā asins perifērās plūsmas indekss, tā korelācija ar adekvātu RA (6), proti, asins plūsmas izmaiņu korelācija ar temperatūras izmaiņām pēc simpātiskā bloka, visticamāk, ir atkarīga no audu caurasīgotības. Tāpēc pētījumā izvēlējamies atbilstošu lokalizāciju temperatūras mērīšanai. 2006. gadā Galvins veica pētījumu, kurā analizēja iespēju izmantot perifērās plūsmas indeksu RA iznākuma vērtēšanai, un konstatēja vienkāršu, agrīnu un objektīvu iespēju vērtēt RA kvalitāti (6). N. Medianus inervācijas zonu izvēlējamies, jo šīs zonas anestēzija nepieciešama visbiežāk.

Metodes apraksts

Pētījumā analizējam ādas temperatūras izmaiņas pēc RA. Pētījumā iekļauti 55 Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas pacienti vecumā no 17 līdz 85 gadiem. Pacienti, kam bija paredzētas plānveida traumatoloģiskas un ortopēdiskas operācijas augšējai ekstremitātei, atbilda pirmajai līdz trešajai ASA klasei, bez asinsvadu specifiskas patoloģijas.

Izmantotā aparatūra: pacienta monitors *MP50* (*Philips*, Vācija; temperatūras mērīšanas robežas no -1 līdz $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, rezolūcija $0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, precizitāte $\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$); PNS aparāts *Stimuplex (B-Braun)*, Vācija); ultrasonoskopijas aparāts *MicroMax Turbo* (*SonoSite*, ASV); pacienta pozicionēšanas iekārta „*Locoflex*” (Latvija).

Mērījumi tika veikti vienā telpā (pēc ISO2000 standarta sertificētā operāciju zālē ar kontrolējamu gaisa temperatūru $23,2\pm 0,8\text{ }^{\circ}\text{C}$). Pacienta pozīcija: guļus uz muguras, rokas pleca locītava 90° abdukcijā un elkoņa locītava 90° fleksijā, roka ievietota pozicionēšanas iekārtā „*Lkoflex*” 30° leņķī pret horizontālo asi, fiksēta. Temperatūras sensors tika fiksēts pie pacienta ādas pirms manipulācijas sākuma (uz apakšdelma distālās daļas palmārās virsmas vietā, kas simpātisko inervāciju saņem

no *N. Medianus*). Mērījumu atskaites punkts ir divas minūtes pirms manipulācijas sākuma (pēc temperatūras stabilizācijas).

Pacientiem tika veikta *Plexus brachialis* reģionālā anestēzija paduses līmenī, US atbalstīta un izmantojot PNS metodi. Ar divām transkutānajām punkcijām anestezēti četri perifērie nervi (*N. medianus*, *N. musculocutaneus*, *N. ulnaris*, *N. radialis*). Ievadīti LA: S. Lidocaini 2 % – 10,0ml + S. Marcaini 0,5 % – 10,0 ml. Mērījumu beigas – pēc ķirurga pieprasījuma. Kopā – līdz 30 minūtēm. Mērījumu intervāls – 1 min.

Par adekvātām (izdevušās) uzskatījām anestēzijas, kad nebija nepieciešamības pievienot papildu pretsāpju medikamentus vai pilnībā pāriet uz citu anestēzijas veidu, kā arī tika pārbaudīts pēc tradicionāliem kritērijiem: *motorais* bloks, *sensorais* bloks, pacienta subjektīvās izjūtas.

Par neadekvātām (neizdevušās vai daļēji izdevušās) uzskatījām anestēzijas, kad radās nepieciešamība pievienot papildu pretsāpju medikamentus vai pilnībā pāriet uz citu anestēzijas veidu, jo neproporcionāli pieauga (noteicošais) pacienta subjektīvais diskomforts.

Iegūto rezultātu statistiskai analīzei izmantojām „*t-test for differences in two means*”.

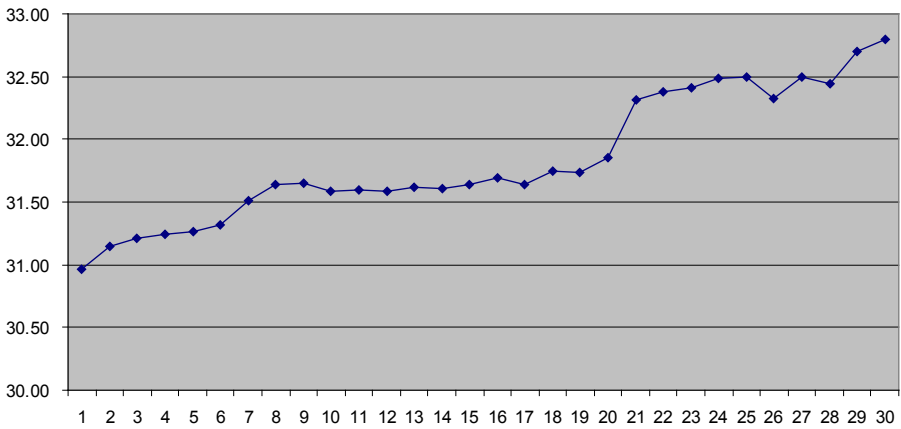
Rezultāti

Pētījumā analizējām ādas temperatūras izmaiņas pēc RA 55 pacientiem. Darba gaitā fiksēts vidējais manipulācijas (anestēzijas veikšanas) ilgums: $5,38 \pm 1,67$ min.

Sekmīga anestēzija bija 85 % pacientu (47 gadījumi).

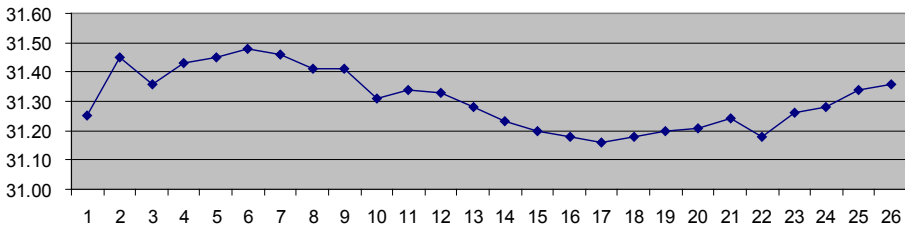
Temperatūras izmaiņu grafikā konstatēts nelineārais raksturs. Pēc veiksmīgas RA ādas temperatūra paaugstinās. Maksimālais temperatūras pieaugums vidēji konstatēts 13. minūtē. Salīdzinot temperatūras pieaugumu veiksmīga un neveiksmīga bloka gadījumā, statistiski ticams lielāks temperatūras pieaugums vērojams veiksmīgas anestēzijas gadījumā – $\Delta T_1^{\circ} = 1,4729 \pm 0,9769$ °C salīdzinot ar $\Delta T_2^{\circ} = 0,05 \pm 0,410575$ °C kontroles grupā ($p = 0,000177$).

Pētījums tiek turpināts.



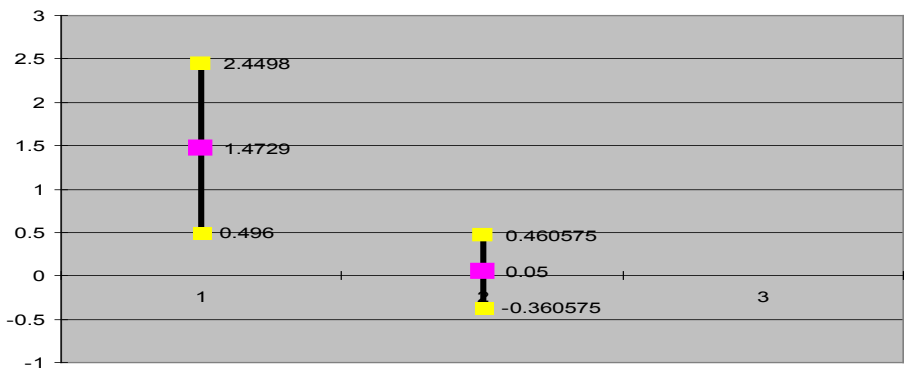
1. attēls. Vidējās temperatūras izmaiņu grafiks adekvātas (izdevušās) anestēzijas gadījumā

Figure 1. The curve of modification of the average temperature in case of successful anaesthesia



2. attēls. Vidējās temperatūras izmaiņu grafiks neadekvātas (neizdevušās) anestēzijas gadījumā

Figure 2. The curve of modification of the average temperature in case of unsuccessful anaesthesia



3. attēls. Vidējais temperatūras pieaugums veiksmīgas un neveiksmīgas anestēzijas gadījumā

Figure 3. The average increase of temperature in case of successful/unsuccessful anaesthesia

Diskusija

Tradicionāli pētījumos analizēts bloka ātruma iestāšanās laiks, nepieciešamo medikamentu apjoms un tilpums, manipulācijai nepieciešamais laiks, ādas elektro-pretestība pēc simpātiskā bloka, perifēras plūsmas indeksa izmaiņas (6), stresa marķieri pirms/pēc anestēzijas utt. Pacienta aukstuma izjūtas izmantojamas RA sensora bloka robežu noteikšanai ikdienā, bet pēc pieejamiem datiem tikai daži kolēģi, piemēram, Stevenss, Nīhofs, Verdehauzens (2006, 2007), Galvins (2006) (2, 4, 5, 6), ir mēģinājuši kontrolēt temperatūras izmaiņas, lai noteiktu perifērā nervu bloka kvalitāti/esamību. E. M. Galvins (2006) izmantoja infrasarkano termogrāfiju ādas temperatūras analīzei pēc RA (5). Tomēr biežāk literatūrā ir runa par centrālo neuroaksiālo bloku vai dažu anestēzijas metožu salīdzinājumu, hipotermijas risku pēc VA vai RA (1). Tā 2000. gadā Č. G. Kataneo, analizējot temperatūras izmaiņas un hipotermijas risku pēc VA vai RA, divās grupās pa 16 pacientiem atzīmēja vienādus riskus pie ievērojamām temperatūras izmaiņām. Stevenss ar kolēģiem (2006) uzskata temperatūras kontroles metodi par ierobežotu lietošanā vēlīnu rezultātu dēļ, analizējot T° izmaiņas uz apakšējās ekstremitātes (2, 4). Šajos gadījumos, domājams, ir vainojama temperatūras sensora lokalizācija (sensors tika novietots pārāk distāli). Pēc mūsu datiem, testa jutība un ātrums ir adekvāti ātri un atbilstoši simpātiska bloka iestāšanās laikam. Līdzīgi dati iegūti arī Stevensa un kolēģu gadu vēlākā pētījumā (8).

Kā redzam literatūrā, tiek izmantotas ne tikai vienkāršas, bet arī komplikētas metodes (piem., infrasarkanā termogrāfija (5), austiņu tipa infrasarkanais timpaniskais termometrs (1) utt.).

Apzinoties visu ķermeņa termoregulācijas komplikēto mehānismu, tomēr vēlējamies izziņāt šo problēmu. Precizitātei bija nepieciešami vienādi apstākļi, lai nodrošinātu kvalitatīvus mērījumus un novērstu citus ietekmējošos nejaušos faktoros (piem., pacienta sildītāji, šķidruma sildītāji, i/v ievadītā šķidruma temperatūra, kondicionieri, operācijas lampas gaisma, ādas iztvaikošana utt.), sertificēts aprīkojums ar atbilstošu izšķiršanas spēju un precizitāti.

Iegūtie dati sakrīt ar literatūrā aprakstītajiem datiem. Mūsu darbā konstatēts, ka iespējams izmantot temperatūru kā kritēriju anestēzijas iznākuma praktiskai vērtēšanai. Tomēr ir atradnes, kurām, mūsaprāt, pagaidām nav pierādīta skaidrojuma. Līdz ar to paveras potenciālie darba virzieni turpmākai problēmas izpētei. Joprojām ir diskutējams jautājums par precīzu ΔT° ($0,46^{\circ}$ – $0,8^{\circ}$ – 1°) robežu, ko var uzskatīt par garantiju pozitīvam anestēzijas iznākumam. Pagaidām nevaram izskaidrot temperatūras samazināšanos atsevišķos gadījumos pēc adekvātas RA un nelineāro temperatūras izmaiņu grafiku. Izpētot asins plūsmas korelāciju ar temperatūras izmaiņām pēc simpātiskā bloka, domājams, varētu ieviest lielāku skaidrību.

Secinājumi

1. Izvērtējot iegūtos rezultātus, varam uzskatīt, ka temperatūras izmaiņas datus drīkstam izmantot RA kvalitātes vērtēšanai.

2. Par neadekvātu RA iznākumu varam uzskatīt gadījumu, ja temperatūras izmaiņas sasniedz $0,05 \pm 0,410575^{\circ}\text{C}$ laika periodā līdz 30 minūtēm pēc manipulācijas.

3. Nepieciešami papildu pētījumi, lai noskaidrotu temperatūras un asins plūsmas izmaiņu korelāciju lokalizācijās un citu faktoru ietekmē.

Literatūra

1. Cattaneo C. G., Frank S. M., Hesel T. W., El-Rahmany Ho. K., Kim L. J., and Tran K. M. The Accuracy and Precision of Body Temperature Monitoring Methods during Regional and General Anesthesia. *Anesth. Analg.* 2000, 90, 938–945.
2. Stevens M. F., Werdehausen R., Hermanns H., Lipfert P. Skin temperature and sensory changes during regional anesthesia of the lower extremity. *Anesth. Analg.*, 2006, 102, 1247–1251.
3. Kimura T., Goda Y., Kemmotsu O. and Shimada Y. Regional differences in skin, blood flow and temperature during total spinal anaesthesia. *Canadian Journal of Anesthesia*, 1992, 39, 123–127.
4. Werdehausen R., Braun S., Hermanns H., Freynhagen R., Lipfert P., Stevens M. Uniform Distribution of Skin-Temperature Increase after Different Regional Anesthesia Techniques of the Lower Extremity. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, 2007, 32, 1, 73–78.
5. Galvin E. M., Niehof S., Medina H. J., et al. Thermographic temperature measurement compared with pinprick and cold sensation in predicting the effectiveness of regional blocks. *Anesth. Analg.*, 2006, 102, 598–604.
6. Galvin E. M., Niehof S., Verbrugge S. J., Maissan I., Jahn A., Klein J., van Bommel J., Guyton A. C., Hall J. E. Peripheral flow index is a reliable and early indicator of regional block success. *Anesth. Analg.*, 2006, 103(1), 239–243.
7. Guyton A. C., Hall J. E. Somatic sensations: II. Pain, headache, and thermal sensations. In: Guyton A. C., Hall J. E. (eds.) *Textbook of medical physiology*. 9th ed. Philadelphia: Saunders, 1996, 609–620.
8. Stevens M. F., Werdehausen R., Hermanns H., and Lipfert P. Further Evidence that Temperature Measurement Is a Useful Indicator of Regional Anesthesia Outcomes. *Anesth. Analg.*, 2007, 104, 741–742.
9. Frank S.. Comparison of lower extremity cutaneous temperature changes in patients receiving lumbar sympathetic ganglion blocks versus epidural anesthesia. *Journal of Clinical Anesthesia*, 2000, 12, 7, 525–530.

Summary

In case of regional anaesthesia (RA), if a patient is not cooperative, is not adequate, or is under general anaesthesia (GA), there are no standard guidelines to determine the quality or existence of RA.

We have tried to find a simple and accessible additional form of monitoring of RA because there was no unequivocal information on this problem in the literature.

We presumed to find statistically believable correlation between the quality/existence of the peripheral block and the skin temperature after RA. The data on skin temperature changes are analysed in a prospective research (55 planned patients aged 17 to 85, ASA I–3, that were appointed traumatologic and orthopaedic surgery of the upper extremity without particular pathology of blood vessels). The following facts were stated: the non-linear character of the temperature's modification curve; the skin temperature increased after successful RA; after an adequate (successful) anaesthesia the average temperature differential (ΔT_1°) 1.4729 ± 0.9769 °C; after an inadequate (unsuccessful) anaesthesia the average ΔT_2° 0.05 ± 0.410575 °C ($p < 0.001$).

Nanodimanti pazemina NO koncentrāciju dažādos audos žurkām ar lipopolisaharīdu izraisīta iekaisuma apstākļos

Nanodiamonds Lower NO Concentration in Different Tissues of Rats during Lipopolysaccharide-Induced Inflammation

**Maija Dzintare,¹ Larisa Baumanē,¹ Dainivīte Meirena,¹
Valentīna Gordjušina,² Jeļena Šaripova,² Lāsma Ļauberte,²
Nikolajs Sjakste^{1,2}**

¹Latvijas Organiskās sintēzes institūts, Aizkraukles iela 21, Rīga, LV-1006

²Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001

E-pasts: maija.dzintare@gmail.com, nikolajs.sjakste@lu.lv

Nanodimantus bioloģijā un medicīnā ir iespējams plaši pielietot. Zināms, ka nanodimantu kristāli ir spēcīgi radikāļi, kas var terminēt radikāļu reakcijas, kādas norisinās smagu slimību, tai skaitā iekaisumu un audzēju, gadījumos, tātad tie varētu būt potenciāli pretiekaisuma līdzekļi. Mēs noteicām nanodimantu ietekmi uz NO koncentrāciju, kā arī alfa un beta nitrozilhemoglobīna koncentrāciju dažādos audos intaktām žurkām un ar lipopolisaharīdu (LPS) izraisīta iekaisuma apstākļos. Izmantojām tiešas NO noteikšanas metodi EPR. Nanodimanti (deva 50 mg/kg, p. o., 4 st.) neietekmē NO koncentrāciju intaktām žurkām, bet dažādās to devas samazina NO koncentrāciju pētītajos audos žurkām ar iekaisuma modeli. Efekts ir atkarīgs no nanodimantu devas – lielākā deva (2500 mg/kg, p. o., 4 st.) iekaisuma apstākļos NO koncentrāciju samazina vidēji par 70% visos pētītajos audos: smadzeņu garozā, smadzenītēs, sirdī, nierēs, sēkliniekos, šķērsvītrotajos muskuļos, kuņģī, aknās, asinīs, plaušās, taukaudos, liesā un zarnās. Pie īslaicīgākas iedarbības (1 vai 2 st.), samazinājums ir attiecīgi 45 un 60%, efekts nesasniedz statistisku ticamību plaušās un taukaudos (1 un 2 st.) un zarnās (1 st.). Nanodimanti devā 1000 mg/kg (p. o., 4 st.) NO koncentrāciju samazina smadzeņu garozā, smadzenītēs, aknās, sirdī, asinīs un liesā, bet vismazākā deva (1 mg/kg, p. o., 4 st.) nevienos audos efektu neuzrāda. Nanodimanti samazina arī alfa un beta nitrozilhemoglobīna koncentrāciju žurku asinīs, aknās, liesā un plaušās iekaisuma modelī. Mūsu pētījumā iegūtie rezultāti liecina, ka nanodimantiem piemīt antioksidantu īpašības un tos varētu ieteikt kā perspektīvu pretiekaisuma līdzekli.

Atslēgvārdi: NO, nitrozilhemoglobīns (nitrozil-Hb), nanodimanti, EPR, lipopolisaharīds (LPS), iekaisums.

Attīstoties nanozinātnei un nanotehnoloģijām, zinātnieki arvien vairāk uzmanības pievērš oglekļa nanomateriāliem – dažādiem oglekļa alotropiskajiem veidiem (nanocaurulītēm, fullerēniem, nanodimantiem). Pēdējo gadu laikā publicēts ļoti daudz materiālu par oglekļa nanocaurulīšu pielietojumu medicīnā un bioloģijā: vielu transportēšanai uz noteiktām mērķšūnām, mikroelektrodu pārklājumiem u. c. (Shenderova et al., 2002). Ir attīstījusies pat jauna nozare – fullerēnu ķīmija, kura meklē iespējas fullerēniem piesaistīt dažādas molekulas un izmantot tos kā zāļu nesējus. Šāds pētījums ir veikts arī Latvijas Organiskās sintēzes institūtā (Plotniece, 2005).

Salīdzinoši mazāk pētītas ir citas oglekļa nanodaļiņas – nanodimanti un iespējas tos izmantot bioloģijā un medicīnā.

Nanodimanti jeb ultradispersas dimanta daļiņas (UDD) ir dažus (2–20) nanometrus lieli dimanta kristāli, kurus iegūst rūpnieciski ar divām – detonācijas un šoka – metodēm. Nanodimantus atklāja pagājušā gadsimta sešdesmitajos gados Krievijā, balstoties uz padomju kara zinātnes sasniegumiem eksperimentos ar sprāgstvielām, tai skaitā raķešu degvielu (www.nanodiamond.com.ua/NANO.HTM). Nanodimantu daļiņas veidojas detonācijas kamerā no degvielas oglekļa atomiem 3500 °C temperatūrā un apmēram 200 000 atmosfēru spiedienā. Šoka metodē, ko lietoja rietumvalstīs, grafitis augstas temperatūras un augstspiediena apstākļos ārējas eksplozijas ietekmē pārvēršas par dimanta nanodaļiņām. Detonācijas metode veido atsevišķus nanodimantu kristālus, savukārt šoka metode – mikrodimantu polikristālus (<http://www.nanonet.go.jp/english/mailmag/2007/091a.html>).

Mūsu pētījumā izmantotie nanodimanti, kas iegūti Zinātniski pētnieciskajā apvienībā “Altajs” (Bijska, Krievija), ir tumši pelēks pulveris ar mikrokristālu izmēru 3–8 nm, vidējais daļiņu diametrs ir 4,5 nm. Pie tik maziem izmēriem termodinamiski stabilāka forma ir dimants, nevis grafitis (Gamarnik, 1996). Parasti dimantam ir tetraedriska kristāliska struktūra, ķīmiski tas ir inerts, tam ir izcilas mehāniskās (liela cietība), elektriskās (dielektriķis) un termiskās īpašības (augsta kušanas temperatūra). Detonācijas sintēzē iegūtajiem dimantiem ir ļoti daudz virsmas defektu. Uz virsmas esošie oglekļa atomi 10^{-6} sekundēs, kamēr ilgst detonācijas vilnis, nepaspēj stabilizēt savu elektronu apvalku tradicionālā veidā, veidojot saites ar kristāliskā režģa iekšējos slāņos esošajiem atomiem. Tie sapāro savus elektronus, veidojot dažādas funkcionālās grupas ar detonētajā sprāgstvielā esošo skābekli, ūdeņradi un slāpekli (karbonil-, karboksil-, hidroksil-, metil-, nitrilgrupas u. c.). Tādējādi šiem 4,5 nm lielajiem nanodimantiem, kas satur ne vairāk kā 300 oglekļa atomu, ir ķīmiski inerts apaļas vai ovālas formas kodols ar klasisku dimanta kristālisko struktūru un ķīmiski aktīvs “vainags” ar iepriekšminētajām funkcionālajām grupām, kam ir hidrofilas īpašības (Dolmatov, 2003). Turklāt katrs nanokristāls, kuram ir daudz nesapārotu elektronu $(3-7) \cdot 10^{19}$ spini/cm³, būtībā ir spēcīgs daudzkārtējs radikālis. Nanodimantiem ir ļoti liela īpatnējā virsma (450 m²/g) un ārkārtīgi lielas adsorbcijas spējas (1–10 μg-ekv/m²). Domājams, ka nanodimantu lielās adsorbcijas spējas nosaka tas, ka uz to virsmas esošās daudzās funkcionālās grupas var veidot ūdeņraža saites (Dolmatov, 2003). EPR spektros UDD signāls ir singlets pie $g = 2,003$ (Dolmatov, 2003).

Savu īpašību dēļ nanodimantiem ir plašas potenciālā pielietojuma jomas bioloģijā un medicīnā. Tos var izmantot kā nesējus zāļu vielām, gēniem, proteīniem, lai selektīvi sasniegtu konkrētas audu šūnas, kā arī implantu pārklājumiem, biosensoru un medicīnas nanorobotu izveidei (Schrand et al., 2007). Nanodimantus var izmantot hromatogrāfijas kolonās un bioloģisku paraugu attīrīšanai (Nesterenko et al., 2007). Tiem piemīt fotoluminescence, ko izmanto kā šūnu marķierus attēlu ar augstu izšķirtspēju iegūšanai (Fu et al., 2007, Chang et al., 2008, Sonnefraud Y. et al., 2008).

Tie nav citotoksiski, mutagēni vai kancerogēni (Schrand et al., 2007, Yu S. J. et al., 2005), LD (perorāli) > 7500 mg/kg (Dolmatov, 2003). Tomēr ir arī dati, ka detonācijas nanodimanti ir izraisījuši eritrocītu hemolīzi un leukocītu sabrukšanu *in vitro* (Puzyr' et al., 2005).

Nanodimanti ir superaktīvi sorbenti, tāpēc uz to virsmas var imobilizēt bioloģiski aktīvas vielas. Tas krasi palielina ārstniecības preparātu darbību, uzlabojot to biopieejamību (Puzyr et al., 2007). Rūpnieciski iegūstamos nanodimantus var izmantot pretvēža terapijā, kur tie kalpo kā jauna zāļu transportforma, kas palīdz paaugstināt fizioloģiski aktīvo vielu koncentrāciju audzēja šūnās (Par. № 2109683, Escorcía et al., 2007, Bianco et al., 2008), jo tām piemīt tieksme fagocitēt nanodaļiņas. Šūnas spontāni dažu minūšu laikā uzņem sevī nanodimantus (Neugart et al., 2007, Vial et al., 2008). Praksē jau agrāk apstiprinājies, ka augstākā efektivitāte ir tieši ūdenī nešķīstošām pretvēža zālēm, piemēram, resvertolam un likopēnam.

Uz nanodimantu virsmas ir skābekli saturošas funkcionālās grupas un liels skaits nesapārotu elektronu, tāpēc nanodimantiem ir spēcīgas radikāļu īpašības un tie, saistot citus radikāļus, var terminēt radikāļu reakcijas. Palielinātu radikāļu daudzumu un oksidatīvo stresu neizbēgami novēro jebkuras smagas slimības, tai skaitā iekaisumu un audzēju, gadījumā (Dzintare u. c., 2007).

Iekaisuma apstākļos un audzēja šūnās, aktivējoties inducējamajai NO sintāzei (iNOS), lielā daudzumā veidojas arī slāpekļa oksīda (NO) radikāļi (Sjakste et al., 2007). Zināms, ka NO viegli saistās pie dezoksihemoglobīna hēma grupas Fe (II) atoma, veidojot Fe-nitrozil-Hb. NO koncentrācija audos korelē ar nitrozilhemoglobīna koncentrāciju. Nitrozilhemoglobīnam ir raksturīgi EPR spektri (pie g faktora vērtības 2,00): triplets – alfa-Hb-NO (pentakoordinēts un atbilstīgs T stāvoklim, dezoksi-Hb) un plata josla – beta-Hb-NO (heksakoordinēts un atbilstīgs R stāvoklim, oksi-Hb) (Hille et al., 1979, Huang et al., 2006, Jaszewski et al., 2003).

Nanodimantu un NO mijiedarbība *in vivo* līdz šim praktiski nav pētīta.

Mūsu pētījumā noskaidrojām nanodimantu ietekmi uz NO un alfa un beta nitrozil-Hb koncentrāciju dažādos *Wistar* līnijas žurku audos gan intaktām žurkām, gan ar lipopolisaharīdu izraisīta iekaisuma apstākļos.

Materiāli un metodes

Pētījumā izmantojām *Wistar* līnijas žurku tēviņus, kuru masa 200–300 g un kuri audzēti Rīgas Stradiņa Universitātes Eksperimentālo dzīvnieku laboratorijā. Eksperimentus veicām saskaņā ar Latvijas Zinātnes padomes ētikas komisijas noteikumiem.

Lipopolisaharīdu (LPS) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchene, Vācija) žurkām ievadījām intraperitoniāli 10 mg/kg četras stundas pirms dekapitācijas. Nanodimantus (Zinātniski pētnieciskā apvienība “Altajs”, Bijska, Krievija) dažādās devās: 2500, 1000, 50 un 1 mg/kg, suspendētus ūdenī (80% nanodimantu, 20% ūdens), žurkām ievadījām perorāli četras stundas pirms dekapitācijas, izņemot devu 2500 mg/kg, ko daļai žurku ievadījām arī vienu vai divas stundas pirms dekapitācijas.

NO koncentrāciju audos noteicām ar tiešu metodi – elektronparamagnētiskās rezonanses spektroskopiju (EPR) (Vanin and Kleschyov, 1998). 30 minūtes pirms dekapitācijas dzīvniekiem ievadījām dzelzs (II) sulfātu (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchene, Vācija) (40 mg/kg) un nātrija citrātu (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchene, Vācija) (200 mg/kg) subkutāni un NO saistītāju

dietilditiokarbamātu (DETC) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchene, Vācija) (400 mg/kg) intraperitoniāli, kas ar NO veido stabilus kompleksus Fe-DETC-NO. Pēc šo kompleksu EPR spektru trešās komponentes ($g = 2,031$) augstuma noteicām NO koncentrāciju (ng/g audu).

Pētītājām žurkām asinīs, aknās, liesā un plaušās ar EPR metodi noteicām arī alfa un beta nitrozilhēmoglobīna koncentrāciju, jo alfa un beta nitrozilhēmoglobīns ir paramagnētisks komplekss ar raksturīgiem spektriem pie g vērtības 2,0 (Jaszewski et al., 2003).

EPR spektri pierakstīti 77 K temperatūrā ar EPR spektrometru (Radiopan SE/X2544, Polija) un kvarca djuāru (Bruker ER 167 FDS-Q, Vācija).

Statistika – Stjudenta t tests.

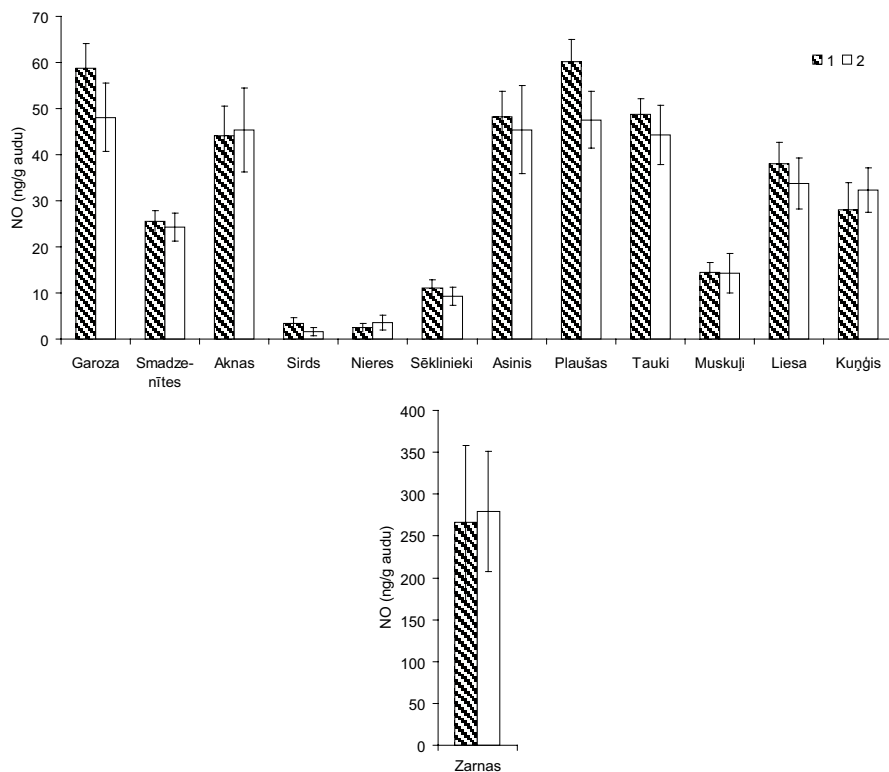
Rezultāti

Kontroles žurkām ievadījām nanodimantu devu, un tās dekapitējām pēc vienas, četrām un 24 stundām. EPR spektros tika reģistrēti katram orgānam raksturīgi vāji fona signāli. Nanodimantu brīvos radikāļus detektējām tikai kuņģī un zarnās vienu stundu pēc to ievadīšanas. Tas liecina par nanodimantu brīvradiķāļu grupu strauju reaģētspēju un neuzskrāšanos organismā.

NO koncentrāciju ar EPR metodi noteicām žurku smadzeņu garozā, smadzenītēs, sirdī, nierēs, sēkliniekos, muskuļos, kuņģī, aknās, asinīs, plaušās, taukaudos, liesā un zarnās.

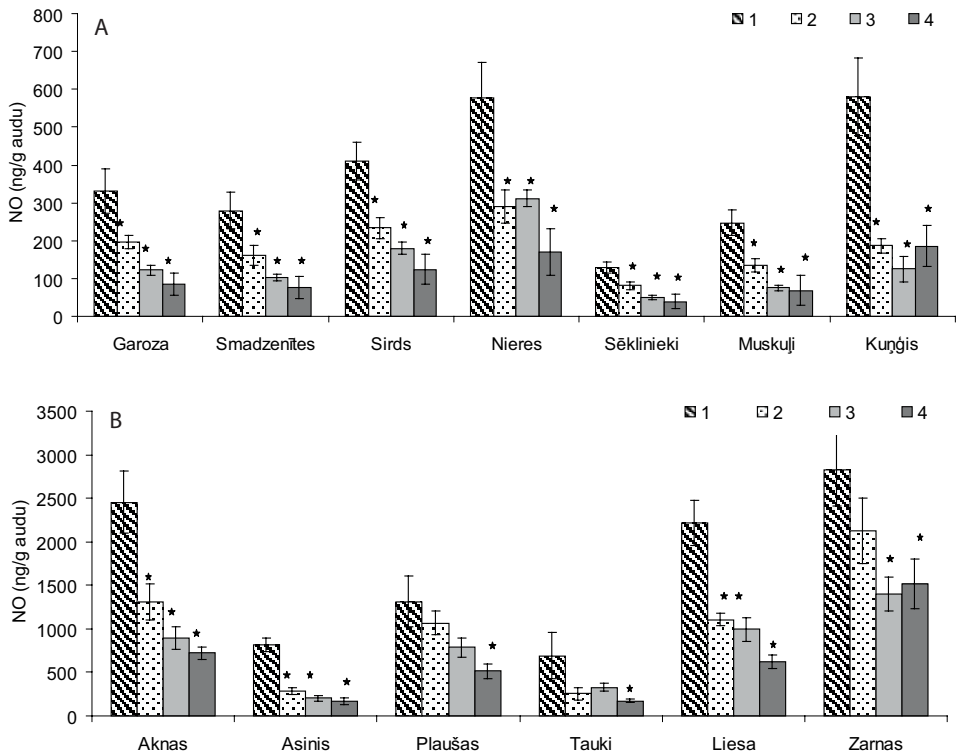
Nanodimanti (50 mg/kg, p. o., 4 st.) neietekmē NO koncentrāciju intaktām žurkām. Statistiski ticamu NO koncentrācijas samazinājumu nenovērojām nevienos no pētītajiem audiem (1. att. A un B).

Nanodimanti samazina NO koncentrāciju dažādos audos žurkām ar LPS izraisītu iekaisumu. Visizteiktāko efektu novērojām četras stundas pēc vislielākās nanodimantu devas (2500 mg/kg., p. o.) ievadīšanas – NO koncentrācija samazinājās visos pētītajos audos vidēji par 70% (2. att.). Nanodimanti, šādā devā iedarbojoties tikai vienu stundu, NO koncentrāciju samazināja visos audos vidēji par 45%, izņemot plaušas, taukus un zarnas, kur samazinājums nerasniedza statistisku ticamību, bet pēc divām stundām vidējais NO koncentrācijas samazinājums audos bija 60%, izņemot plaušas un taukaudos, kur netika sasniegta statistiski nozīmīga atšķirība. Nanodimanti devā 1000 mg/kg (i. p., 4 st.) NO koncentrāciju samazināja smadzeņu garozā, smadzenītēs, aknās, sirdī, asinīs un liesā (3. att.). Nanodimanti devā 1 mg/kg nevienos audos efektu neuzrādīja.



I. attēls A un B. Nanodimanta daļiņu ietekme uz NO koncentrāciju dažādos žurku audos intaktām žurkām. 1 – kontroles grupa, 2 – nanodimanti (50 mg/kg, p. o., 4 st.).
* – $P < 0,05$ pret kontroles grupu.

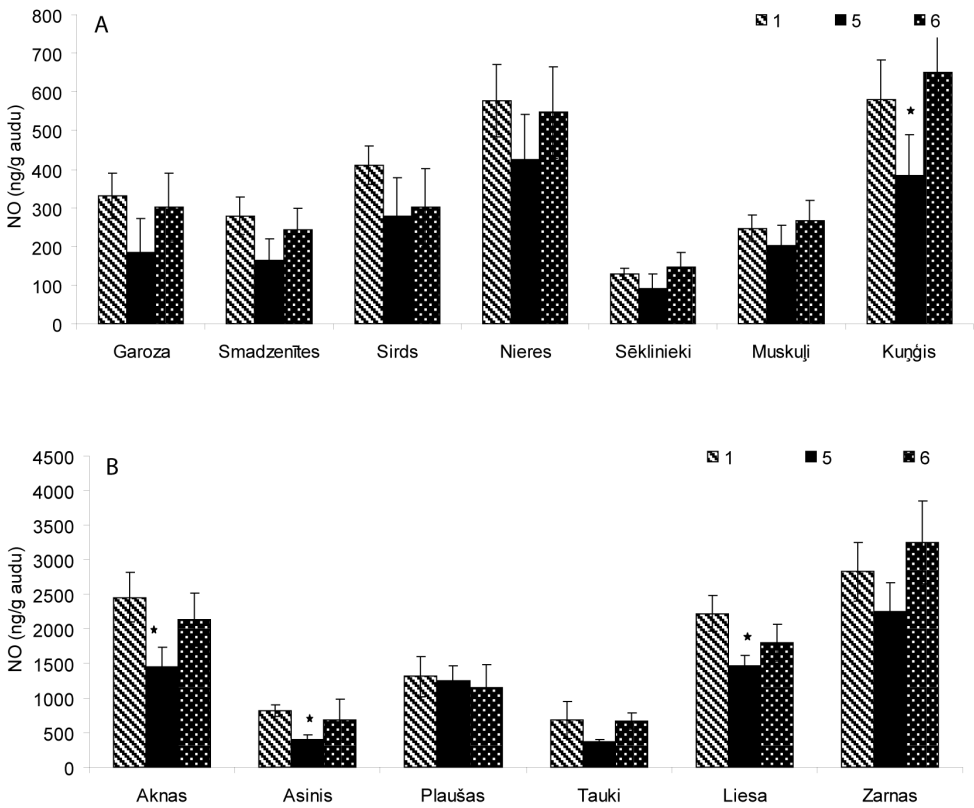
Figure 1. A, B. Influence of nanodiamond particles on the concentration of NO in different tissues of intact rats. 1 – control, 2 – nanodiamonds (50 mg/kg, p. o., 4 h).
* – $P < 0.05$ versus control.



2. attēls. Nanodimanta daļiņu ietekme uz NO koncentrāciju dažādos žurku audos uz lipopolisaharīda (LPS) izraisīta iekaisuma fona. A – smadzeņu garoza, smadzenītes, sirds, nieres, sēklinieki, šķērsvītrotie muskuļi, kuņģis. B – aknas, asinis, plaušas, taukaudi, liesa, zarnas. 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 2 – nanodimanti (2500 mg/kg, p. o., 1 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 3 – nanodimanti (2500 mg/kg, p. o., 2 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 4 – nanodimanti (2500 mg/kg, p. o., 4 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.). * – $P < 0,05$ pret 1. grupu.

Figure 2. Influence of nanodiamond particles on the concentration of NO in different tissues of rats during lipopolysaccharide- (10 mg/kg, i. p., 4 h) induced inflammation.

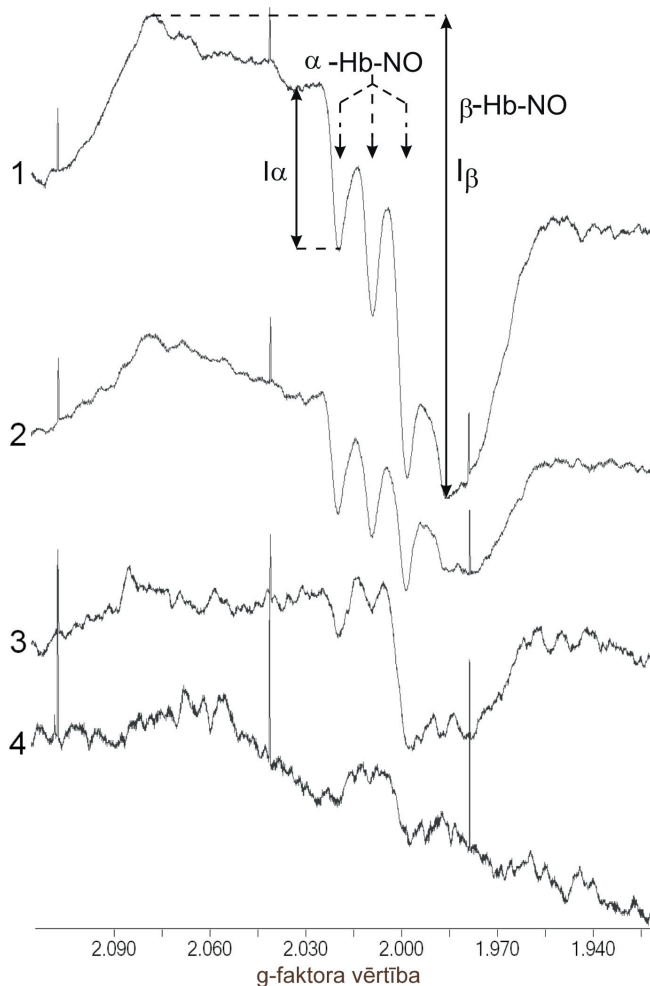
A – brain cortex, cerebellum, heart, kidneys, testis, striated muscle, stomach. B – liver, blood, lungs, adipose tissue, spleen, gut. 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 2 – nanodiamonds (2500 mg/kg, p. o., 1 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 3 – nanodiamonds (2500 mg/kg, p. o., 2 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 4 – nanodiamonds (2500 mg/kg, p. o., 4 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h). * – $P < 0.05$ versus Group 1^s.



3. attēls. Nanodimanta daļiņu ietekme uz NO koncentrāciju dažādos žurku audos uz lipopolisaharīda (LPS) izraisīta iekaisuma fona. A – smadzeņu garoza, smadzenītes, sirds, nierēs, sēklinieki, šķērsvītrotie muskuļi, kuņģis. B – aknas, asinis, plaušas, taukaudi, liesa, zarnas. 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 5 – nanodimanti (1000 mg/kg, p. o., 4 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 6 – nanodimanti (1 mg/kg, p. o., 1 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.). * – $P < 0,05$ pret 1. grupu.

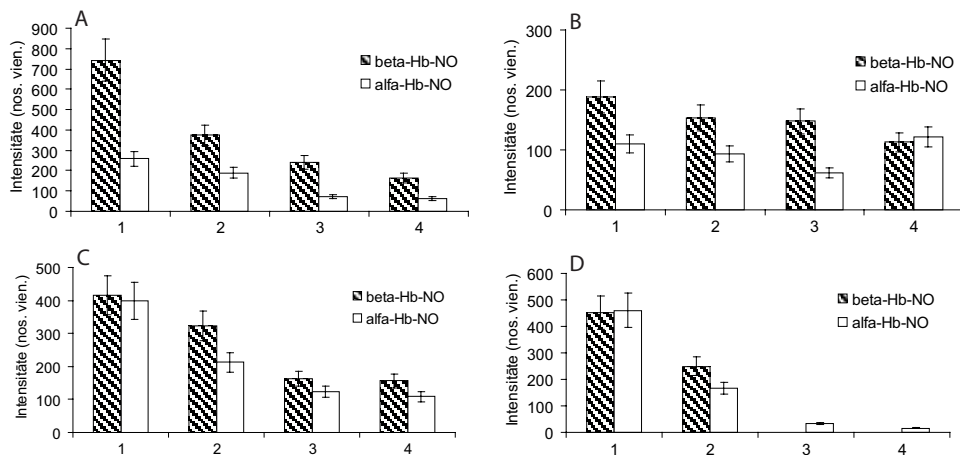
Figure 3. Influence of nanodiamond particles on the concentration of NO in different tissues of rats during lipopolysaccharide- (10 mg/kg, i. p., 4 h) induced inflammation. A – brain cortex, cerebellum, heart, kidneys, testis, striated muscle, stomach. B – liver, blood, lungs, adipose tissue, spleen, gut. 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 5 – nanodiamonds (1000 mg/kg, p. o., 4 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 6 – nanodiamonds (1 mg/kg, p. o., 1 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h). * – $P < 0.05$ versus Group 1^s.

Nanodimanti atkarībā no devas un iedarbības ilguma samazināja arī nitrozilhemoģlobīna (alfa un beta nitrozil-Hb) koncentrāciju pētītajos audos: asinīs, aknās, liesā un plaušās (4. un 5. attēlā). 4. attēlā redzams nitrozilhemoģlobīna EPR spektrs ar raksturīgo plato beta-nitrozilhemoģlobīna joslu un specifisko tripleta struktūru, kas norāda uz penta-koordinēto alfa-nitrozil-Hb kompleksu klātbūtni ($g = 2,004$) (Hille et al., 1979, Jaszewski et al., 2003).



4. attēls. EPR spektri. alfa un beta nitrozilhemoglobīna koncentrācijas samazināšanās žurku asinīs atkarībā no nanodimantu (2500 mg/kg, p. o.) iedarbības ilguma uz LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.) izraisīta iekaisuma fona. 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 2 – nanodimanti (2500 mg/kg, p. o., 2 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 3 – nanodimanti (2500 mg/kg, p. o., 4 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 4 – kontrole – intaktas žurkas (divas reizes lielāks EPR signāla pastiprinājums).

Figure 4. EPR spectra. Decrease of the concentration of alfa- and beta-nitrosyl hemoglobin in the blood of rats in different intervals after administration of nanodiamonds (2500 mg/kg, p. o.) on the background of lipopolysaccharide- (10 mg/kg, i. p., 4 h) induced inflammation. 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 2 – nanodiamonds (2500 mg/kg, p. o., 2 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 3 – nanodiamonds (2500 mg/kg, p. o., 4 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 4 – control – intact rats (doubled amplification of the EPR signal).



5. att. Nanodimantu ietekme uz alfa un beta nitrozilhemoglobīnu dažādos žurku audos uz LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.) izraisīta iekaisuma fona. A – asinis, B – plaušas, C – liesa, D – aknas. 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 2 – nanodimanti (2500 mg/kg, p. o., 2 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 3 – nanodimanti (2500 mg/kg, p. o., 4 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.), 4 – nanodimanti (1000 mg/kg, p. o., 4 st.) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 st.).

Figure 5. Effect of nanodiamonds on alfa- and beta-nitrosyl hemoglobin in different tissues of rats during lipopolysaccharide- (10 mg/kg, i. p., 4 h) induced inflammation.

A – blood, B – lungs, C – spleen, D – liver. 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 1 – LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 2 – nanodiamonds (2500 mg/kg, p. o., 2 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 3 – nanodiamonds (2500 mg/kg, p. o., 4 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h), 4 – nanodiamonds (1000 mg/kg, p. o., 4 h) + LPS (10 mg/kg, i. p., 4 h).

Diskusija

Zināms, ka NO ir organismam absolūti nepieciešams kā asinsvadu tonusa regulators, neurotransmiteris un lielās koncentrācijās piedalās šūnu imunitātes reakcijās. Tomēr NO ir saistīts arī ar negatīvām parādībām: sepsi, neurodeģeneratīvu slimību patogēnēzi, diabēta komplikāciju attīstību (Wimalawansa et al., 2008, Stadler et al., 2008). Tāpēc ir ļoti aktuāli atrast dažādas vielas ar antioksidantu īpašībām. Nanodimanti sevī apvieno gan spēcīga adsorbenta dabu (Nesterenko et al., 2007), gan antioksidantu īpašības, par ko ir maz zinātnisku ziņojumu.

Mūsu pētījumā nanodimanti būtiski neietekmē NO koncentrāciju intaktām žurkām – deva 50 mg/kg (p. o., 4 st.) nav efektīva nevienos audos. Taču ar LPS izraisīta iekaisuma apstākļos nanodimanti atkarībā no to devas un iedarbības ilguma samazina NO koncentrāciju visos pētītajos žurku audos. Lielākā deva (2500 mg/kg, p. o.), iedarbojoties četras stundas, iekaisuma apstākļos NO koncentrāciju samazina vidēji par 70% visos pētītajos audos: smadzeņu garozā, smadzenītēs, sirdī, nierēs, sēkliniekos, šķērsvītrotajos muskuļos, kuņģī, aknās, asinīs, plaušās, taukaudos, liesā un zarnās. Iedarbojoties īsāku laiku – divas stundas, NO koncentrācija žurku audos samazinās vidēji par 60%, bet, iedarbojoties vienu stundu, – par 45%. Īsākā laikā iedarbības efekts neparādās plaušās un taukaudos (2 un 1 st.), un zarnās (1 st.).

Deva 1000 mg/kg (p. o., 4 st.) NO koncentrāciju samazina tikai smadzeņu garozā, smadzenītēs, aknās, sirdī, asinīs un liesā, bet vismazākā deva (1 mg/kg, p. o., 4 st.) nevienos audos efektu neuzrāda.

Nanodimanti samazina arī nitrozilhemoglobīna koncentrāciju žurku asinīs ar LPS izraisīta iekaisuma apstākļos. Turklāt NO koncentrācijas pazeminājums asinīs un liesā procentuāli saskan, mērot to pēc nitrozilhemoglobīna EPR signāliem un ar NO radikāļu ķērāju DETC. Asinīs četras stundas pēc nanodimantu ievadīšanas NO koncentrācija samazinājusies par 75% (noteikts ar DETC metodi) un par 70% (ar NO-Hb metodi), liesā – attiecīgi par 70 un 72%. Šāds rezultāts nozīmē, ka pie augstām NO koncentrācijām tā līmeni organismā var izmērīt pēc nitrozilhemoglobīna EPR signāliem asinīs, neievadot papildu radikāļu ķērāju DETC.

Tādējādi mūsu pētījumā nanodimanti samazina gan NO koncentrāciju audos, gan pentakoordinētā alfa-nitrozil-Hb koncentrāciju žurku asinīs. Mūsu pētījumā gūtie rezultāti liecina, ka nanodimantiem piemīt pretiekaisuma īpašības un tos varētu ieteikt kā pretiekaisuma līdzekli.

Secinājumi

1. Nanodimanti atkarībā no to devas un iedarbības ilguma uz LPS izraisīta iekaisuma fona samazina NO koncentrāciju dažādos žurku audos: smadzeņu garozā, smadzenītēs, sirdī, nierēs, sēkliniekos, šķērsvītrotajos muskuļos, kuņģī, aknās, asinīs, plaušās, taukaudos, liesā un zarnās.
2. Intaktām žurkām nanodimanti NO koncentrāciju audos neietekmē.
3. Nanodimanti atkarībā no to devas un iedarbības ilguma uz LPS izraisīta iekaisuma fona samazina arī nitrozilhemoglobīna koncentrāciju asinīs. Turklāt NO koncentrācijas pazeminājums asinīs un liesā procentuāli saskan, mērot to pēc nitrozilhemoglobīna EPR signāliem un ar NO radikāļu ķērāju DETC.
4. Nanodimantiem piemīt pretiekaisuma īpašības.

Literatūra

1. Dzintare, M., Meirena, D., Sjakste, N. Slāpekļa oksīda nozīme cilvēka patoloģijā. *Latvijas Universitātes Raksti*. 2007; 712. sēj.: Medicīna, 54.–63.
2. Plotniece, M. Fullerēna C. 60 ciklopievienošanās reakcijas un reakcijas sānu ķēdē. Promocijas darba kopsavilkums. RTU, Rīga, 2005.
3. Bianco, A., Kostarelos, K., Prato, M. Opportunities and challenges of carbon-based nanomaterials for cancer therapy. *Expert opinion on drug delivery*. 2008; 5(3): 331–342.
4. Chang, Y. R., Lee, H. Y., Chen, K., Chang, C. C., Tsai, D. S., Fu, C. C., Lim, T. S., Tzeng, Y. K., Fang, C. Y., Han, C. C., Chang, H. C., Fann, W. Mass production and dynamic imaging of fluorescent nanodiamonds. *Nature nanotechnology*. 2008; 3(5): 284–288.
5. Escorcía, F. E., McDevitt, M. R., Villa, C. H., Scheinberg, D. A. Targeted nanomaterials for radiotherapy. *Nanomedicine (London, England)*. 2007; 2(6): 805–815.
6. Fu, C. C., Lee, H. Y., Chen, K., Lim, T. S., Wu, H. Y., Lin, P. K., Wei, P. K., Tsao, P. H., Chang, H. C., Fann, W. Characterization and application of single fluorescent nanodiamonds as cellular biomarkers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007; 104(3): 727–732.

7. Gamarnik, M. Y. Energetical preference of diamond nanoparticles. *Physical review. B, Condensed matter*. 1996; 54, 2150–2156.
8. Hille, R., Olson, J. S., Palmer, G. Spectral transitions of nitrosyl hemes during ligand-binding to hemoglobin. *The Journal of Biological Chemistry*. 1979; 254: 2110–2120.
9. Huang, K. T., Azarov, I., Basu, S., Huang, J., Kim-Shapiro, D. B. Lack of allosterically controlled intramolecular transfer of nitric oxide from the heme to cysteine in the β subunit of hemoglobin. *Blood*. 2006; 107(7): 2602–2604.
10. Jaszewski, A. R., Fann, Y. C., Chen, Y.-R., Sato, K., Corbett, J., Mason, R. P. EPR spectroscopy studies on the structural transition of nitrosyl hemoglobin in the arterial-venous cycle of DEANO-treated rats as it relates to the proposed nitrosyl hemoglobin/nitrosothiol hemoglobin exchange. *Free Radical Biology & Medicine*. 2003; 35, 444–451.
11. Nesterenko, P. N., Fedyanina, O. N., Volgin, Y. V. Microdispersed sintered nanodiamonds as a new stationary phase for high-performance liquid chromatography. *The Analyst*. 2007; 132(5): 403–405.
12. Neugart, F., Zappe, A., Jelezko, F., Tietz, C., Boudou, J. P., Krueger, A., Wrachtrup, J. Dynamics of diamond nanoparticles in solution and cells. *Nano letters*. 2007; 7(12): 3588–3591.
13. Puzyr, A. P., Purtov, K. V., Shenderova, O. A., Luo, M., Brenner, D. W., Bondar, V. S. The adsorption of aflatoxin B1 by detonation-synthesis nanodiamonds. *Doklady. Biochemistry and biophysics*. 2007, 417: 299–301.
14. Schrand, A. M., Huang, H., Carlson, C., Schlager, J. J., Omacr Sawa, E., Hussain, S. M., Dai, L. Are diamond nanoparticles cytotoxic? *The journal of physical chemistry. B*, 2007, 111(1): 2–7.
15. Shenderova, O. A., Zhirnov, V. V., Brenner, D. W. Carbon nanostructures. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*. 2002, 27, 227–356.
16. Sjakste, N., Andrianov, V. G., Boucher, J. L., Shestakova, I., Baumane, L., Dzintare, M., Meirena, D., Kalvinsh, I. Paradoxical effects of two oximes on nitric oxide production by purified NO synthases, in cell culture and in animals. *Nitric Oxide*. 2007; 17(3–4): 107–114.
17. Sonnefraud, Y., Cuche, A., Faklaris, O., Boudou, J. P., Sauvage, T., Roch, J. F., Treussart, F., Huant, S. Diamond nanocrystals hosting single nitrogen-vacancy color centers sorted by photon-correlation near-field microscopy. *Optics letters*. 2008; 33(6): 611–613.
18. Stadler, K., Bonini, M. G., Dallas, S., Jiang, J., Radi, R., Mason, R. P., Kadiiska, M. B. Involvement of inducible nitric oxide synthase in hydroxyl radical-mediated lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetes. *Free radical biology & medicine*. 2008.
19. Vial, S., Mansuy, C., Sagan, S., Irinopoulou, T., Burlina, F., Boudou, J. P., Chassaing, G., Lavielle, S. Peptide-Grafted Nanodiamonds: Preparation, Cytotoxicity and Uptake in Cells. *Chembiochem: a European journal of chemical biology*. 2008; 9(13): 2113–2119.
20. Yu, S. J., Kang, M. W., Chang, H. C., Chen, K. M., Yu, Y. C. Bright fluorescent nanodiamonds: no photobleaching and low cytotoxicity. *Journal of the American Chemical Society*. 2005; 127(50): 17604–17605.
21. Wimalawansa, S. J. Nitric oxide: new evidence for novel therapeutic indications. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2008; 9(11): 1935–1954.
22. Долматов, В. Ю. Ультрадисперсные алмазы детонационного синтеза. Санкт-Петербург, Издательство СПбГПУ, 2003, 343 с.

23. Пат. № 2109683, РФ, 27.04.98. Способ выделения синтетических ультрадисперсных алмазов. Долматов, В. Ю., Сушев, В. Г., Марчуков, М. А., Губаревич, Т. М., Корженевский, А. П. *Chem. Abst.* Vol. 124, 180335 y.
24. www.nanonet.go.jp/english/mailmag/2007/091a.html
25. www.nanodiamond.com.ua/NANO.HTM

Summary

There is a prospect of various applications of nanodiamonds in biology and medicine. For example, they can be used for drug, DNA, and protein delivery to specific target cells and tissues. Crystals of nanodiamonds are potent radicals that can terminate radical reactions involved in etiology and pathogenesis of such serious pathologies as inflammation and tumours. This indicates a possibility to use nanodiamonds as anti-inflammatory drugs. We have investigated influence of nanodiamonds on the concentration of NO and nitrosyl-haemoglobin in different tissues of Wistar line rats. Both intact rats and animals carrying inflammation induced by lipopolysaccharide (LPS) were under study. NO concentration was measured directly by means of electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. Our results indicate that nanodiamonds (50 mg/kg, p. o., 4 h) do not change the concentration of NO in tissues of intact rats and reduce it depending on the dose during inflammation induced by LPS. The maximal dose (2500 mg/kg, p. o., 4 h) induced lowering of NO concentration in about 70% of all investigated tissues: brain cortex, cerebellum, heart, kidneys, testis, striated muscle, stomach, liver; blood, lungs, adipose tissue, spleen, gut. Shorter applications cause smaller decrease of NO content – on average for 2 and 1 hours, in 60% and 45%, respectively, the effect does not reach a statistically significant difference in lungs and adipose tissue (1 h, 2 h) and gut (1 h). Nanodiamonds in a dose of 1000 mg/kg (p. o., 4 h) reduced NO concentration only in brain cortex, cerebellum, liver, heart, and spleen, but the minimal dose (1 mg/kg, p. o., 4 h) had no effect on any of investigated tissues. Nanodiamonds decrease levels of alpha- and beta-nitrosyl-Hb in blood, liver, spleen, and lungs during inflammation induced by LPS. Our data indicate probable antioxidant properties of nanodiamonds. Some anti-inflammatory drugs probably can be developed on the basis of these particles.

Keywords: NO, nitrosyl hemoglobin, nanodiamonds, EPR, lipopolysaccharide, inflammation.

Mildronāts samazina L-karnitīna koncentrāciju, bet neietekmē glikozes uzņemšanu un ar to saistīto gēnu ekspresiju peļu smadzenēs

Mildronate Decreases L-Carnitine Concentration, but Does Not Influence Glucose Uptake and Related Gene Expression in Mice Brain

**Reinis Vilšķersts,^{1,2} Līga Zvejniece,¹ Irina Strogova,² Jekaterina
Alijeva,³ Ruta Muceniece,² Maija Dambrova¹ un Edgars Liepiņš¹**

¹Latvijas Organiskās sintēzes institūts, Aizkraukles iela 21, Rīga, LV-1006

E-pasts: Reinis.Vilskersts@biomed.lu.lv

²Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001

³Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultāte, K.Valdemāra iela 48, Rīga, LV-1013

Mildronāts ir kardioprotektīvs līdzeklis, kas tiek lietots arī neiroloģisko slimību ārstēšanai. Mūsu darba mērķis bija noskaidrot mildronāta ietekmi uz karnitīna un γ -butirotbetaīna (GBB) koncentrāciju izmaiņām un glikozes uzņemšanu smadzenēs kā vienu no iespējamajiem mildronāta darbības mehānismiem neiroloģisko indikāciju gadījumā. Mildronāta trīs nedēļu terapija samazināja karnitīna un palielināja GBB koncentrāciju smadzenēs, taču neizmainīja glikozes uzņemšanu pētītajās smadzeņu struktūrās un neietekmēja glikozes metabolismā iesaistīto enzīmu mRNS transkripciju.

Mildronāta neiroloģiskie efekti nav atkarīgi no glikozes metabolisma un ar to saistīto gēnu ekspresiju smadzenēs.

Atslēgvārdi: mildronāts, karnitīns, glikozes metabolisms.

Ievads

Mildronāts (3-(2,2,2-trimetilhidrazīnija)propionāts) ir kardioprotektīvs līdzeklis, ko lieto, lai aizsargātu šūnas pret išēmiskiem bojājumiem slimniekiem ar stenokardiju, hronisku sirds mazspēju un smadzeņu asinsrites traucējumiem (1, 2). Sākotnēji tika atklāts, ka mildronāts ir γ -butirotbetaīna (GBB) hidroksilāzes konkurējošs inhibitors (3, 4). Inhibējot GBB hidroksilāzi, kas lokalizēta aknās, nierēs un sēklinieka piedēklī, mildronāts samazina karnitīna koncentrāciju gan asins plazmā, gan dažādos audos (5). Pierādīts, ka mildronāts ne tikai inhibē karnitīna sintēzi, bet arī kavē tā reabsorbciju nieru kanāliņos (6), kas vēl vairāk samazina karnitīna daudzumu organismā. Vairāki pētījumi parādījuši, ka mildronāts arī kavē karnitīna iekļūšanu šūnā caur karnitīna transportproteīniem (6, 7). Karnitīns ir nepieciešams garo ķēžu taukskābju aktivācijai to transportam mitohondrijos, kur notiek β -oksidācija (8), savukārt karnitīna koncentrācijas samazināšanās izraisa garo ķēžu taukskābju oksidācijas samazināšanos (3, 4). Ilgu laiku mildronāta farmakoloģiskie efekti tika skaidroti ar mildronāta ietekmi uz lipīdu metabolismu, tomēr jaunākie pētījumi parādīja, ka mildronāta

terapija ietekmē arī glikozes metabolismu, paaugstinot glikozes oksidācijas ātrumu hipoksijas apstākļos izolētā žurkas sirdī (9). Nesen mūsu pētījumā iegūtie rezultāti parādīja, ka hroniska mildronāta ievadīšana paaugstina insulīna stimulēto glikozes uzņemšanu sirdī un veicina glikozes metabolismā iesaistīto enzīmu ekspresiju (10). Atvieglots glikozes metabolisms ir viens no ļoti efektīviem veidiem, kā aizsargāt miokardu išēmijas-reperfūzijas laikā (11). Un domājams, ka tas ir arī viens no mildronāta kardioprotektīvajiem darbības mehānismiem.

Tātad tika parādīts, ka mildronātam ir ne tikai kardioprotektīva aktivitāte, bet ka mildronāta terapija arī samazina neiroloģisko komplikāciju attīstību (2). Ja mildronāta kardioprotektīvā aktivitāte tiek skaidrota ar glikozes un taukskābju metabolisma līdzsvara izmaiņām miokardā (5, 10), tad mildronāta pozitīvie efekti neiroloģisko slimību gadījumā saistīti ar hemodinamisko parametru izmaiņām smadzenēs (12) un, iespējams, arī neironu metabolisma izmaiņām. Glikozes metabolisms ir galvenais enerģijas avots smadzenēs (13), un tā izmaiņas veicina neironu apoptozes attīstību reperfūzijas periodā pēc išēmijas (14), kā arī neiroloģisko slimību attīstību (15). Līdz šim pierādīts, ka glikozes metabolismu miokardā iespējams veicināt, samazinot karnitīna koncentrāciju (10, 16). Galvas smadzenēs praktiski nenotiek taukskābju oksidatīvais metabolisms, tomēr tajās ir atrasts karnitīns (17), kura koncentrācijas samazināšana, iespējams, varētu izmainīt glikozes metabolismu smadzeņu šūnās. Līdz šim pierādīts, ka mildronāts samazina karnitīna koncentrāciju dažādos audos (5), tomēr nav datu par mildronāta ietekmi uz karnitīna koncentrāciju smadzenēs un kā karnitīna koncentrācijas izmaiņas smadzeņu šūnās ietekmē glikozes metabolismu.

Pētījuma mērķis bija noskaidrot mildronāta ietekmi uz karnitīna koncentrāciju galvas smadzenēs un izpētīt hroniskas un akūtas mildronāta ievadīšanas ietekmi uz insulīna-neatkarīgo un insulīna-atkarīgo glikozes uzņemšanu peles galvas smadzenēs, kā arī noskaidrot mildronāta terapijas ietekmi uz glikozes metabolismā iesaistīto enzīmu mRNS transkripciju.

Materiāli un metodes

Reaģenti

Mildronāts (3-(2,2,2-trimetilhidrazīnija)propionāts) kā dāvana tika saņemta no a/s "Grindeks". D-[U-¹⁴C] glikoze (7,4 MBq/ml, [200 μCi/ml]) tika iegādāta no *Amersham International* (Lielbritānija). Acetonitrils un metanols tika iepirkts no *Merck* (Vācija). Amonija acetāts un nātrija hidroksīds tika iegādāts no *Acros* (ASV), praimeris – no *Metabion* (Lielbritānija), savukārt insulīna šķīdums (NovoRapid; 100 U/ml) – no *Novo Nordisk* (Dānija).

Dzīvnieki

Eksperimentiem tika izmantoti pieauguši ICR līnijas peļu tēviņi ar ķermeņa masu 28–30 g un pieauguši *Wistar* līnijas žurku tēviņi ar ķermeņa masu no 200 līdz 250 g. Dzīvniekus pētījumiem iegādājāmies no Rīgas Stradiņa universitātes Laboratorijas dzīvnieku vivārija (Latvija). Pirms eksperimenta dzīvnieki tika turēti standarta sprostos pa astoņiem vienā sprostā. Tika nodrošināti eksperimentālo dzīvnieku uzturēšanas standarta apstākļi (gaisa temperatūra + 21–23 °C, relatīvais gaisa mitrums 65 ± 10%, 12 stundu gaismas/tumsas cikls). Barībai izmantoja standartizētu diētu R3 no firmas LABFOR (*Lactamin AB*, Zviedrija), dzeramais ūdens bija pieejams bez

ierobežojuma. Visas eksperimentālās manipulācijas ar laboratorijas dzīvniekiem tika apstiprinātas Pārtikas un veterinārajā dienestā (Pārtikas un veterinārā dienesta un Dzīvnieku aizsardzības ētikas padomes atzinums, Rīga, Latvija).

Karnitīna, GBB un mildronāta noteikšana žurku smadzeņu homogenātos

Lai noskaidrotu mildronāta ilglaicīgas lietošanas ietekmi uz karnitīna un GBB koncentrāciju izmaiņām smadzenēs, žurkas tika iedalītas divās grupās, no kurām viena saņēma mildronātu devā 100 mg/kg (i. p.) 21 dienu, savukārt otra – izotoniskā nātrija hlorīda šķīduma injekcijas (i. p.). Pēc trīs nedēļām žurkas tika dekapitētas un izgrieztas smadzenes, kas tika homogenizētas aukstā destilētā ūdenī tilpuma attiecībā 1 : 5 pie 1500 rpm 1 min ar teflona/stikla homogenizētāju. Iegūtais homogenāts tika centrifugēts pie 14000 g 10 min + 4 °C temperatūrā. Supernatants tika noņemts, bet nogulsnes homogenizētas aukstā ūdenī tādā pašā attiecībā kā iepriekš. Homogenātu centrifugēja pie 14000 g 10 min + 4 °C temperatūrā. Supernatantu apvienoja un uzglabāja -80 °C saldētavā līdz turpmākām analīzēm.

Karnitīna, GBB un mildronāta koncentrācijas noteikšanai smadzeņu homogenātos tika izmantota īpaši augstas efektivitātes hromatogrāfija, kas sajūgta ar tandēma masspektrometriju (UPLC/MS/MS). Kā iekšējo standartu kalibrācijai izmantoja 3-(2,2-dimeil-2-prop-1-il-hidrazīnija)propionātu. 50–200 µl ekstrakta tika samaisīti ar 1 ml iekšējās standartvielas šķīduma acetoni-trila-metanola maisījumā (3 : 1, v/v). Iegūtais šķīdums tika samaisīts un centrifugēts 20 min pie 10000 rpm., lai atbrīvotos no iespējamām proteīnu nogulsnēm. Supernatantu pārnesa UPLC flakonos, kurus pēc tam ievietoja UPLC/MS/MS paraugu turētājā. Analīzes tika veiktas, izmantojot *Waters Acquity* UPLC sistēmu, kolonas – *Waters Acquity* HILIC BEH 1,7 µm 2,1 x 100 mm, injekcijas tilpums: 5 µl, eluēja ar 10 mM amonija acetāta šķīdumu (pH 4), plūsma: 0,2 ml/min. MS/MS analīzes tika veiktas, izmantojot *Micromass Quatro Micro*TM tandēmā ar masspektrometru un pozitīvas uzlādēšanas elektroizsmidzināšanas jonizāciju ar izvēlētu jonu pāreju reģistrāciju m/z 162,4 → m/z 103,0 karnitīnam, m/z 146,3 → m/z 87,9 GBB; m/z 147,3 → m/z 58,4 mildronātam un m/z iekšējam standartam. *MassLynx* 4.1. programmatūra komplektā ar *QuanLynx* 4.1. moduli (*Waters*) tika izmantota datu iegūšanai un apstrādei.

Glikozes uzņemšana peļu smadzenēs

Lai noskaidrotu mildronāta hroniskas ievadīšanas ietekmi uz glikozes uzņemšanu smadzenēs, peles tika iedalītas divās grupās, no kurām viena saņēma mildronātu devā 200 mg/kg i.p. 21 dienu. Kontroles grupas dzīvnieki saņēma attiecīgu daudzumu izotoniskā nātrija hlorīda šķīduma. Eksperimenta dienā abu grupu peles tika iedalītas divās grupās. Pusei kontroles grupas dzīvnieku tika ievadīts insulīns (1 U/kg, i. p.), bet otrai pusei – izotoniskais nātrija hlorīda šķīdums. Identiski tika iedalīti mildronāta grupas dzīvnieki, no kuriem puse saņēma attiecīgu izotoniskā nātrija hlorīda šķīduma devu, bet otra puse – insulīnu (1 U/kg, i. p.). 30 min pēc insulīna vai izotoniskā nātrija hlorīda šķīduma ievadīšanas visi dzīvnieki saņēma D-[U-¹⁴C] glikozi (100 µCi/kg, i. p.). Pēc 15 min peles tika dekapitētas un ņemtas asinis, kas tika sajauktas ar scintilācijas šķīdumu (Perkin Elmer), un noteikts šķīduma emitētās gaismas daudzums. Smadzenes tika izņemtas, viena puslode sasaldēta šķidrā slāpekļī RT-PCR analīzei, savukārt no otras puslodes tika atdalīta garoza un

hipotalāms, kas tika lizēti 1 M NaOH šķīdumā. Identiski tika lizētas arī smadzenītes. Iegūtos lizātus sajauca ar scintilācijas šķīdumu (Perkin Elmer) un noteica šķīduma emitētās gaismas daudzumu. Uzņemtās D-[U-¹⁴C] glikozes daudzums tika izteikts kā uzņemtās glikozes daudzums pmol/mg audu.

Lai noskaidrotu mildronāta akūtas ievadīšanas ietekmi uz glikozes uzņemšanu smadzenēs, peles tika iedalītas četrās grupās. Pirmās (kontroles) grupas dzīvniekiem tika ievadīts izotoniskais nātrija hlorīda šķīdums, otrās (mildronāta) grupas dzīvniekiem – mildronāts 200 mg/kg i. p.; trešās (insulīna) grupas dzīvniekiem – insulīns 1 U/kg, i. p.; ceturtās (insulīns + mildronāts) grupas dzīvniekiem – mildronāts devā 200 mg/kg un insulīns 1 U/kg, i. p. 30 min pēc injekcijas visi dzīvnieki saņēma D-[U-¹⁴C] glikozi (100 μCi/kg, i. p.). Pēc 15 min peles tika dekaptētas un smadzenes sagatavotas uzņemtās D-[U-¹⁴C] glikozes daudzuma analīzei, kā tika aprakstīts iepriekš.

RNS izolēšana un kvantitatīva RT-PCR analīze

RNS tika izolēta no saldētām smadzenēm, izmantojot TRI reaģentu (*Sigma*, ASV), vadoties pēc ražotāja instrukcijām. Katra sagatavotā RNS parauga kvalitatīvā un kvantitatīvā novērtēšana notika, izmantojot agarozes gēlu.

Pirmā cDNS dubultspirāle no RNS tika uzsintezēta, izmantojot *RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis* reaģentu komplektu (*Fermentas*), vadoties pēc ražotāja norādītajām instrukcijām. Kvantitatīvā glikozes transportmolekulas-1 (GLUT-1), heksokināzes II (HK II), piruvātdehidrogenāzes (PDH E1), dihidrolipoamīda acetiltransferāzes (PDH E2) un piruvātdehidrogenāzes kināzes 1 (PDK1) RT-PCR analīze tika veikta, samaisot sintezēto cDNS ar adekvātiem praimeriem un RT-PCR *Master Mix* šķīdumu (*Super Array*). Reakcija tika veikta *Applied Biosystems Prism 7700* iekārtā, vadoties pēc ražotāja norādītajām instrukcijām. Kā iekšējā kontrole tika izmantots β-aktīna mRNS daudzums, pret kuru tika standartizēts pārējo peptīdu mRNS daudzums. Visi paraugi tika analizēti divas reizes ar vai bez atgriezeniskās transkriptāzes, lai konstatētu iespējamo genoma DNS piesārņojumu. Pētījumā izmantotie praimerī atspoguļoti 1. tabulā.

1. tabula

Nukleotīdu secība praimeriem, kas tika izmantoti RT-PCR eksperimentā
Primer sequences used in quantitative RT-PCR

Gēns	Praimeris	Nukleotīdu secība
GLUT-1	F	5'-GCAGGAGATGAAAGAAGAGG-3'
	R	5'-CTACAACAAACAGCGACACC-3'
HK II	F	5'-AGTAAGGGTGACAGACAATGG-3'
	R	5'-AGACCAAGAACTCTCATCCAG-3'
PDH E1	F	5'-CCCAGGCATTGTTAAGAG-3'
	R	5'-GCATACAAGGTTAGCAGAGG-3'
PDH E2	F	5'-GCGGACATATAGTAAAGTCTTGG-3'
	R	5'-GAACTAAATGCGAAATCACCAG-3'
PDK 1	F	5'- GAACTAAATGCGAAATCACCAG-3'
	R	5'- GTCACTCATCTTCACAGTCAG-3'

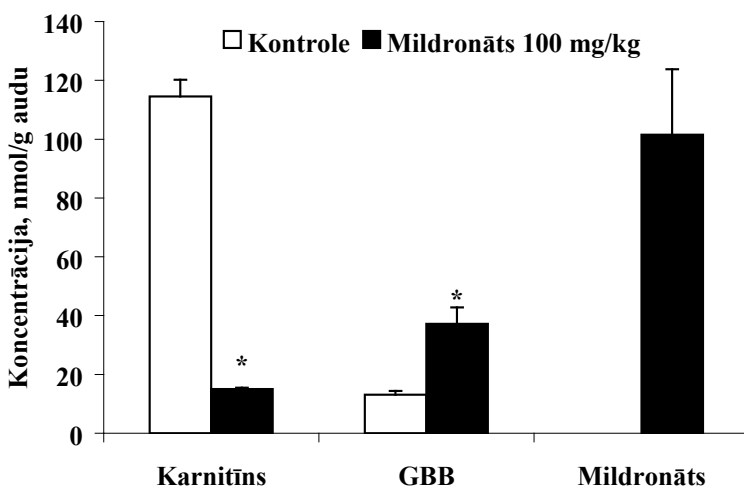
Datu apstrāde

Datu apkopošanā un sistematizācijā tika izmantota programma *Microsoft Excel 2002 for Windows* un *GraphPad Prism 3.00*. Rezultātu ticamība tika pārbaudīta ar ANOVA un t-testu un rezultāti tika uzskatīti par ticamiem, ja $p < 0,05$.

Rezultāti

Mildronāta ietekme uz karnitīna un GBB koncentrāciju smadzenēs

Karnitīna koncentrācija kontroles žurku smadzenēs bija 115 ± 6 nmol/g audu. Mildronāta 21 dienas kurss devā 100 mg/kg samazināja karnitīna koncentrāciju 10 reizes, un tā koncentrācija smadzeņu audos pēc mildronāta terapijas bija 15 ± 1 nmol/g. Gluži pretēji mainījās GBB koncentrācija. Mildronāta ievadīšanas ietekmē tā smadzenēs paaugstinājās trīs reizes (no 13 ± 1 līdz 37 ± 6 nmol/g). Iegūtie rezultāti parādīja, ka mildronāts spēja šķērsot hematoencefalisko barjeru un bija atrodams smadzenēs. Pēc trīs nedēļu mildronāta kursa tā koncentrācija smadzenēs bija 102 ± 22 nmol/g (1. attēls).

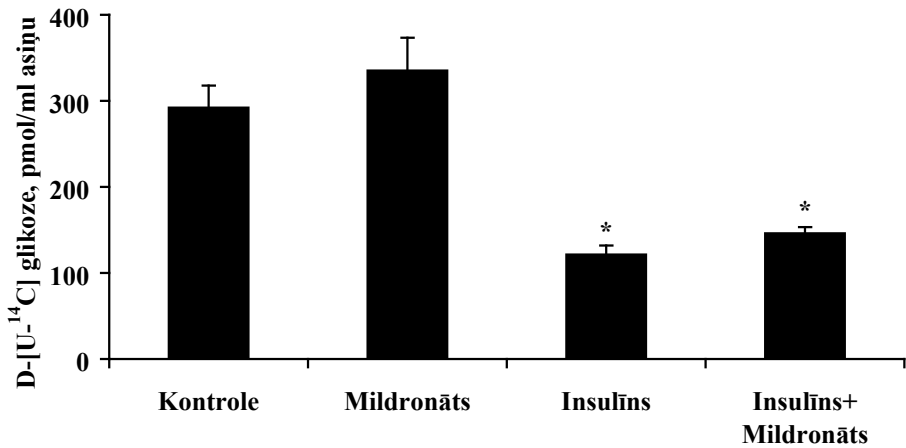


1. attēls. 21 dienas mildronāta kursa ietekme uz karnitīna un GBB koncentrāciju žurkas galvas smadzenēs. Rezultāti attēloti kā vidējā vērtība no trīs žurku smadzenēm ± SEM. * $p < 0,05$, salīdzinot kontroli.

Figure 1. The effect of 21-day mildronate treatment on carnitine and GBB levels in rat brain. Values are represented as the average ± SEM of three rat brains, * $p < 0.05$ from the control group.

Mildronāta ietekme uz glikozes daudzumu asinīs un uzņemšanu smadzenēs

Insulīna ievadīšana samazināja D-[U-¹⁴C] glikozes daudzumu kontroles grupas dzīvnieku asinīs vidēji par 60% (no 292 ± 26 līdz 121 ± 10 pmol/ml asiņu). Mildronāta ilglaicīga ievadīšana devā 200 mg/kg neietekmēja insulīna stimulēto D-[U-¹⁴C] glikozes daudzuma samazināšanos asinīs (2. attēls).



2. attēls. Insulīna ievadīšanas ietekme uz D-[U-¹⁴C] glikozes koncentrāciju kontroles un mildronāta grupas peļu asinīs. Rezultāti attēloti kā vidējā vērtība no vismaz piecām pelēm ± SEM. * $p < 0,05$, salīdzinot ar kontroles grupu.

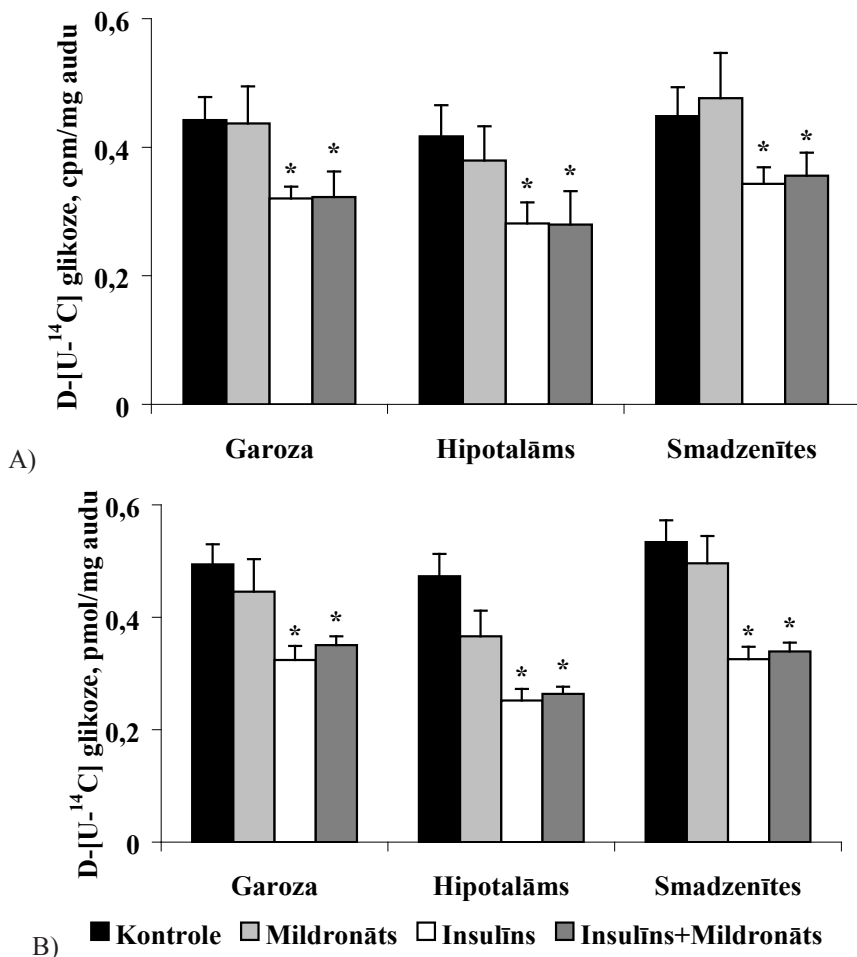
Figure 2. The effect of insulin administration on blood D-[U-¹⁴C] glucose level in control and mildronate group animals. Values are represented as the average ± SEM of at least 5 animals, * $p < 0.05$ from the control group.

Mildronāta hroniskas ievadīšanas ietekme uz D-[U-¹⁴C] glikozes uzņemšanu dažādās galvas smadzeņu struktūrās redzama 3. attēlā (A). Mildronāta 21 dienas kurss nebija izmainījis D-[U-¹⁴C] glikozes uzņemšanu ne smadzeņu garozā, ne hipotalāmā, ne smadzenītēs. Insulīna ievadīšana kavēja D-[U-¹⁴C] glikozes uzņemšanu visās pētītajās smadzeņu struktūrās gan kontroles, gan mildronāta grupas dzīvniekos, kā arī mildronāta ilgstoša ievadīšana nebija izmainījusi insulīna stimulēto glikozes uzņemšanu.

Mildronāta akūta ievadīšana, līdzīgi kā trīs nedēļu mildronāta kurss devā 200 mg/kg, nepaaugstināja D-[U-¹⁴C] glikozes uzņemšanu nevienā no pētītajām smadzeņu struktūrām (3. attēls (B)). Savukārt insulīns devā 1 U/kg statistiski ticami ($p < 0,05$) aizkavēja D-[U-¹⁴C] glikozes uzņemšanu galvas smadzeņu garozā par 35% un hipotalāmā par 47%.

Mildronāta ietekme uz glikozes metabolismā iesaistīto enzīmu mRNS daudzumu

Eksperimenta laikā tika pētīta mildronāta hroniskas ievadīšanas ietekme uz glikozes metabolismā iesaistīto enzīmu (GLUT-1, HK II, PDH E1, PDH E2 un PDK 1) mRNS transkripcijas līmeni. Kontroles dzīvniekos mRNS transkripcijas līmenis tika pieņemts par "1" un mildronātu saņēmušo dzīvnieku attiecīgā proteīna mRNS transkripcijas līmenis tika izteikts kā izmaiņas reizes attiecība pret kontroles līmeni (4. attēls). Iegūtie rezultāti parādīja, ka trīs nedēļu mildronāta kurss neietekmēja nevienu no iepriekš minēto enzīmu mRNS transkripciju.



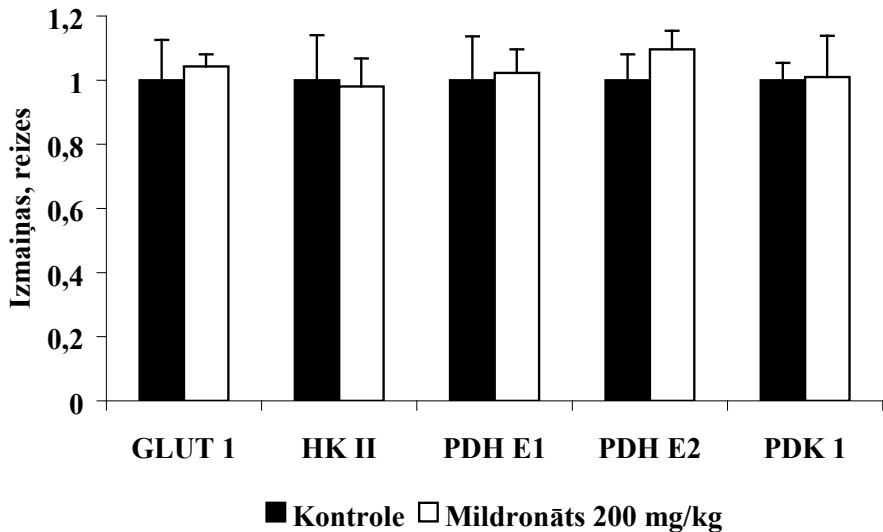
3. attēls. Hroniskas (A) un akūtas (B) mildronāta ievadišanas ietekme uz D-[U-¹⁴C] glikozes uzņemšanu smadzeņu garozā, hipotalāmā un smadzenītēs. Rezultāti attēloti kā vidējā vērtība no vismaz 5 dzīvniekiem ± SEM. * $p < 0,05$ attiecībā pret kontroli.

Figure 3. The effect of chronic (A) and acute (B) mildronate administration on D-[U-¹⁴C] glucose concentration in the brain cortex, hypothalamus, and cerebellum. Values are represented as the average ± SEM of at least 5 animals, * $p < 0.05$ from the control group.

Diskusija

Pētījumā iegūtie rezultāti pirmo reizi parādīja, ka trīs nedēļu ilgs mildronāta kurss žurkām samazināja karnitīna un palielināja GBB koncentrāciju smadzenēs. Hroniska un akūta mildronāta ievadišana neizraisīja glikozes uzņemšanas ātruma izmaiņas ne smadzeņu garozā, ne hipotalāmā, ne smadzenītēs, kā arī neradīja ar glikozes metabolismu saistīto enzīmu mRNS transkripcijas izmaiņas.

Karnitīna galvenā loma organismā ir nodrošināt garo ķēžu taukskābju transportu caur mitohondriju dubultmembrānu, un tā koncentrācija ir augsta orgānos, kuros aktīvi notiek taukskābju metabolisms, piemēram, muskuļos un sirdī (8). Smadzenēs taukskābju metabolisms nenotiek (13) un karnitīna koncentrācija ir vismaz 10 reizes mazāka nekā taukskābes metabolizējošos audos (17), tomēr, neraugoties uz to, mildronāta 21 dienas kurss devā 100 mg/kg bija samazinājis karnitīna koncentrāciju smadzenēs par 87% (1. attēls). Domājams, ka, akūti ievadot mildronātu, nenotiek strauja karnitīna koncentrācijas samazināšanās, bet, līdzīgi kā sirdī un plazmā, nepieciešama ilglaicīga mildronāta ievadīšana, lai tā sasniegtu savu plato koncentrāciju (18), jo, analizējot karnitīna koncentrāciju smadzenēs 1 h pēc mildronāta ievadīšanas, karnitīna koncentrācija nebija samazinājusies (nepublicēti dati). Žurkas smadzenēs aktīva GBB hidroksilāze nav konstatēta (17), tāpēc karnitīna koncentrācijas samazināšanās galvas smadzenēs mildronāta ievadīšanas rezultātā varētu būt skaidrojama ar mildronāta īpašību inhibēt karnitīna transportu šūnā caur OCTN2 transportproteīnu (19), kas tiek ekspresēta smadzeņu asinsvadu endotēlijā un nodrošina karnitīna iekļūšanu smadzeņu audos no asinīm (20).



4. attēls. Mildronāta ilgstošas lietošanas ietekme uz GLUT-1, HK II, PDH E1, PDH E2 un PDK 1 mRNS transkripciju. Rezultāti attēloti kā vidējā vērtība no sešām peļu smadzenēm \pm SEM.

Figure 4. The effect of chronic mildronate administration on mRNA levels of GLUT-1, HK II, PDH E1, PDH E2, and PDK 1.

Values are represented as the average \pm SEM of six mice brains.

Mūsu iepriekš veiktie pētījumi parādīja, ka mildronāts, samazinot karnitīna koncentrāciju, veicina glikozes metabolismā iesaistīto proteīnu ekspresiju un tā rezultātā atvieglo insulīna atkarīgo glikozes uzņemšanu sirds audos (10). Varētu domāt, ka glikozes metabolisma veicināšana smadzenēs varētu mazināt išēmijas-reperfūzijas radītos bojājumus un uzlabot neironu darbību, jo parādīts, ka samazināts glikozes metabolisms reperfūzijā laikā pēc išēmijas veicina apoptozes

attīstību smadzeņu neironos (14), turklāt izmainīts glikozes metabolisms saistīts ar neiroloģisku slimību attīstību (15). Līdz šim pierādīts, ka trimetazidīns, kas līdzīgi kā mildronāts veicina glikozes metabolismu sirdī (21), stimulē arī glikozes uzņemšanu smadzeņu audos (22) un aizsargā smadzenes no išēmijas-reperfūzijas izraisītajiem bojājumiem (23). Kaut gan vairākos pētījumos parādīta mildronāta terapijas pozitīvā ietekme dažādu CNS patoloģiju gadījumā (2), tomēr no šajā pētījumā iegūtajiem rezultātiem varam secināt, ka mildronāta darbības mehānisms nav saistīts ar glikozes metabolisma veicināšanu smadzeņu audos, jo mildronāta terapija neietekmēja glikozes uzņemšanu ne smadzeņu garozā, ne hipotalāmā, ne smadzenītēs (3. attēls). Turklāt mildronāta ievadīšana neizmainīja būtiskāko glikozes metabolismā iesaistīto enzīmu mRNS transkripciju galvas smadzenēs (4. attēls).

Pētījumā pirmo reizi tika parādīts, ka mildronāts pēc tā ievadīšanas nonāk arī galvas smadzenēs (1. attēls), kas ļauj izteikt hipotēzi, ka mildronāts varētu tieši ietekmēt smadzeņu neironu metabolismu. Atrasts, ka cilvēka smadzeņu neironi, atšķirībā no peļu un žurku smadzeņu neironiem, ekspresē GBB hidroksilāzi (24). Tā kā mildronāts ir šī enzīma inhibitors (3, 4), iespējams, ka cilvēkiem mildronāta terapijas ietekme uz smadzeņu metabolismu ir citāda nekā grauzējiem.

Mūsu pētījumā mildronāta ietekme uz glikozes uzņemšanu smadzenēs un ar glikozes metabolismu saistīto enzīmu mRNS transkripciju tika pētīta veselos dzīvniekos, tāpēc nevar izslēgt iespēju, ka uz dažādu patoloģiju fona, kad neironu metabolisms ir izmainīts, mildronāta terapija varētu to uzlabot.

Noslēgumā varam secināt, ka mildronāta terapija palielina GBB un samazina karnitīna koncentrāciju smadzenēs, tomēr atšķirībā no miokarda karnitīna daudzuma izmaiņas neizraisa glikozes uzņemšanas palielināšanos un neveicina glikozes metabolismā iesaistīto enzīmu mRNS transkripciju.

Izmantotie informācijas avoti

1. Sjakste, N., Kalvinsh, I. Mildronate: an antiischemic drug with multiple indications. *Pharmacologyonline*. 2006; 1: 1–18.
2. Sjakste, N., Gutcaits, A., Kalvinsh, I. Mildronate: an antiischemic drug for neurological indications. *CNS Drug Rev*. 2005; 11 (2): 151–168.
3. Simkhovich, B. Z., Shutenko, Z. V., Meirena, D. V., Khagi, K. B., Mezapuke, R. J., Molodchina, T. N., Kalvins, I. J., Lukevics, E. 3-(2,2,2-Trimethylhydrazinium)propionate (THP) – a novel gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor with cardioprotective properties. *Biochem. Pharmacol.* 1988; 37 (2): 195–202.
4. Spaniol, M., Brooks, H., Auer, L., Zimmermann, A., Solioz, M., Stieger, B., Krahenbuhl, S. Development and characterization of an animal model of carnitine deficiency. *Eur. J. Biochem.* 2001; 268 (6): 1876–1887.
5. Dambrova, M., Liepinsh, E., Kalvinsh, I. Mildronate: cardioprotective action through carnitine-lowering effect. *Trends Cardiovasc. Med.* 2002; 12 (6): 275–279.
6. Kuwajima, M., Harashima, H., Hayashi, M., Ise, S., Sei, M., Lu, K., Kiwada, H., Sugiyama, Y., Shima, K. Pharmacokinetic analysis of the cardioprotective effect of 3-(2,2, 2-trimethylhydrazinium) propionate in mice: inhibition of carnitine transport in kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999; 289 (1): 93–102.

7. Georges, B., Le, B. F., Galland, S., Isoir, M., Ecosse, D., Grand-Jean, F., Demarquoy, J. Carnitine transport into muscular cells. Inhibition of transport and cell growth by mildronate. *Biochem. Pharmacol.* 2000; 59 (11): 1357–1363.
8. Lango, R., Smolenski, R. T., Narkiewicz, M., Suchorzewska, J., Lysiak-Szydłowska, W. Influence of L-carnitine and its derivatives on myocardial metabolism and function in ischemic heart disease and during cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc. Res.* 2001; 51 (1): 21–29.
9. Asaka, N., Muranaka, Y., Kirimoto, T., Miyake, H. Cardioprotective profile of MET-88, an inhibitor of carnitine synthesis, and insulin during hypoxia in isolated perfused rat hearts. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 1998; 12 (2): 158–163.
10. Liepinsh, E., Vilskersts, R., Skapare, E., Svalbe, B., Kuka, J., Cirule, H., Pugovics, O., Kalvinsh, I., Dambrova, M. Mildronate decreases carnitine availability and up-regulates glucose uptake and related gene expression in the mouse heart. *Life Sci.* 2008; 83 (10): 613–619.
11. Wang, W., Lopaschuk, G. D. Metabolic therapy for the treatment of ischemic heart disease: reality and expectations. *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* 2007; 5 (6): 1123–1134.
12. Dziak, L. A., Golik, V. A. Use of mildronate for the treatment of patients with circulatory encephalopathy against a background of stenosis of major arteries of the head. *Lik. Sprava.* 2003; (5–6): 98–101.
13. Nalecz, K. A., Miecz, D., Berezowski, V., Cecchelli, R. Carnitine: transport and physiological functions in the brain. *Mol. Aspects Med.* 2004; 25 (5–6): 551–567.
14. Sims, N. R., Zaidan, E. Biochemical changes associated with selective neuronal death following short-term cerebral ischaemia. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1995; 27 (6): 531–550.
15. Gong, C. X., Liu, F., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K. Impaired brain glucose metabolism leads to Alzheimer neurofibrillary degeneration through a decrease in tau O-GlcNAcylation. *J. Alzheimers Dis.* 2006; 9 (1): 1–12.
16. Morris, G. S., Zhou, Q., Wolf, B. A., Christos, S. C., Di Domenico D. F., Shug, A. L., Paulson, D. J. Sodium pivalate reduces cardiac carnitine content and increases glucose oxidation without affecting cardiac functional capacity. *Life Sci.* 1995; 57 (24): 2237–2244.
17. Van V. N., Wanders, R. J., Vaz, F. M. Measurement of carnitine biosynthesis enzyme activities by tandem mass spectrometry: differences between the mouse and the rat. *Anal. Biochem.* 2006; 354 (1): 132–139.
18. Liepinsh, E., Vilskersts, R., Loca, D., Kirjanova, O., Pugovics, O., Kalvinsh, I., Dambrova, M. Mildronate, an inhibitor of carnitine biosynthesis, induces an increase in gamma-butyrobetaine contents and cardioprotection in isolated rat heart infarction. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2006; 48 (6): 314–319.
19. Grube, M., Meyer zu Schwabedissen, H. E., Prager, D., Haney, J., Moritz, K. U., Meissner, K., Roskopf, D., Eckel, L., Bohm, M., Jedlitschky, G., Kroemer, H. K. Uptake of cardiovascular drugs into the human heart: expression, regulation, and function of the carnitine transporter OCTN2 (SLC22A5). *Circulation.* 2006; 113 (8): 1114–1122.
20. Miecz, D., Januszewicz, E., Czeredys, M., Hinton, B. T., Berezowski, V., Cecchelli, R., Nalecz, K. A. Localization of organic cation/carnitine transporter (OCTN2) in cells forming the blood-brain barrier. *J. Neurochem.* 2008; 104 (1): 113–123.
21. Lopaschuk, G. D., Barr, R., Thomas, P. D., Dyck, J. R. Beneficial effects of trimetazidine in ex vivo working ischemic hearts are due to a stimulation of glucose oxidation secondary to inhibition of long-chain 3-ketoacyl coenzyme a thiolase. *Circ. Res.* 2003; 93 (3): e33–e37.

22. Nowak, P., Zagzil, T., Konecki, J., Szczerbak, G., Szkilnik, R., Niwinski, J., Gorzalek, J., Kostrzewa, R. M., Brus, R. Trimetazidine increases [3H] glucose uptake in rat brain. *Pharmacol. Rep.* 2006; 58 (4): 559–561.
23. Dhote, V., Balaraman, R. Anti-oxidant activity mediated neuroprotective potential of trimetazidine on focal cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2008; 35 (5–6): 630–637.
24. Vaz, F. M., Wanders, R. J. Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem. J.* 2002; 361 (Pt 3): 417–429.

Summary

Mildronate is a cardioprotective drug that is also used for treatment of neurological diseases. The aim of this study was to investigate the effect of mildronate on changes of carnitine and GBB concentrations and glucose uptake in the brain as one of the possible mechanisms of action of mildronate in case of neurological diseases. 3-week mildronate treatment decreased carnitine and increased GBB concentration in the brain but had no effect on glucose uptake in the studied regions of the brain and did not influence the transcription of mRNA of enzymes involved in glucose metabolism.

Neurological effects of mildronate are not associated with glucose metabolism and related gene expression in the brain.

Keywords: mildronate, carnitine, glucose metabolism.

FGF-2 loma dermas cilmes šūnu populācijas pašatjaunošanās regulācijā *in vitro* ***FGF-2 Effect on the Self-Renewal of Human Dermal Stem Cell Population in vitro***

Una Riekstiņa,^{1,3} Vadims Parfejevs,^{1,3} Ruta Muceniece,¹ Inese Čakstiņa,^{2,3} Mārtiņš Borodušķis,^{2,3} Jānis Ancāns^{2,3}

¹ Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001, e-pasts: Una.Riekstina@lu.lv

² Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultāte
Kronvalda bulvāris 4, Rīga, LV-1586

³ Latvijas Universitātes Bioanalītisko metožu laboratorija
Rātsupītes iela 7, Rīga, LV-1069

Pieaugušo cilmes šūnām piemīt plastiskums jeb spēja diferencēties citu audu un orgānu šūnās, kas paver iespējas tās pielietot reģeneratīvajā terapijā. Lai cilmes šūnas varētu savairot *in vitro*, ir svarīgi noskaidrot apstākļus, kas nosaka plastiskuma saglabāšanos. Ir izpētīts, ka cilvēka dermas cilmes šūnas *in vitro* kultūrā sekretē fibroblastu augšanas faktoru FGF-2, kas ļauj domāt par autokrīnu šūnu augšanas regulāciju.

Pētījuma mērķi bija raksturot no cilvēka dermas izolētas cilmes šūnas pēc to virsmas antigēnu ekspresijas un noteikt sekretētā FGF-2 lomu cilmes šūnu pašatjaunošanās regulācijā *in vitro*.

Iegūtie rezultāti liecina, ka dermas cilmes šūnām ir atrodami mezenhimālo cilmes šūnu virsmas marķieri CD90, CD73 un CD105, kas ļauj tās dēvēt par ādas mezenhimālajām cilmes šūnām. Pirmo reizi tiek parādīts, ka FGF-2 receptora FGF-R1 bloķēšana izraisa straujāku ādas mezenhimālo cilmes šūnu adipoģenēzi un osteoģenēzi *in vitro*, tādējādi apstiprinot izvirzīto hipotēzi par FGF-2 lomu plastiskuma saglabāšanā.

Atslēgvārdi: cilvēka mezenhimālā cilmes šūna, FGF-2, FGF-R1, diferenciācija, plūsmas citometrija.

Ievads

Somatiskās cilmes šūnas (sauktas arī par pieaugušo cilmes šūnām) ir nediferencētas šūnas, kas atrodas pieauguša cilvēka audos vai orgānos. Tām piemīt spēja pašatjaunoties un veidot dažādas diferencētu meitasšūnu populācijas, kuras nodrošina audu un orgānu homeostāzi visas dzīves garumā (1). Cilmes šūnas ir atrastas kaulu smadzenēs, asinīs, smadzenēs, taukajos audos, asinsvados, skeleta muskuļos, ādā, plaušu un zarnu epitēlijā, aknās, menstruālajās asinīs, deguna gļotādā u. c. (2–4). Somatisko cilmes šūnu izcelsme nav zināma, kaut arī ir izvirzīta hipotēze, ka tās ir dīgļlapu šūnas, kas varētu būt deponējušās agrīnās gastrulācijas periodā. Par to liecina pieaugušo cilvēku audos atrastās šūnas ar embrionālo cilmes šūnu pluripotences pazīmēm – specifisko embrionālo antigēnu un transkripcijas faktoru Oct-4 un Nanog klātbūtni (5).

Cilmes šūnas audos un orgānos saglabājas tā sauktajās nišās, kur to dalīšanās un diferenciāciju regulē ārējo signālu iedarbība (6). Ir zināms, ka cilmes šūnu pašatjaunošanās regulācijā ir iesaistīti vairāki faktori, tostarp bazālais fibroblastu augšanas faktors (*fibroblast growth factor 2*, FGF-2), leikēmijas inhibīcijas faktors (LIF) u. c. (7, 8). Nesenie atklājumi liecina, ka FGF-2 regulē ne tikai embrija cilmes šūnu pašatjaunošanos autokrīnā manierē, bet arī spēlē būtisku lomu adipozo audu mezenhīmas cilmes šūnu reģenerācijas regulācijā (9, 10).

Kaula smadzeņu un adipozo audu mezenhīmālās cilmes šūnas ir guvušas plašu zinātnieku uzmanību sakarā ar to pielietojumu kardiovaskulāro, neurodeģeneratīvo un autoimūno slimību ārstēšanā, un līdz šim veiktie klīniskie izmēģinājumi ir devuši daudzsoļus rezultātus (11–14). Mezenhīmas cilmes šūnas raksturo specifisku virsmas marķieru ekspresija (CD90, CD73, CD105), kā arī diferenciācija adipocītu, hondrocītu un osteocītu šūnu līnijās (15). 2007. gada literatūras pārskatā par mezenhīmas cilmes šūnu plastiskumu Prokops (*Prockop*) ir pievērsis uzmanību faktam, ka dažos klīniskajos pētījumos pēc mezenhīmas cilmes šūnu terapijas pacientu stāvoklis ir uzlabojies, neraugoties uz pavisam nelielu ieaugušo šūnu skaitu (~1%). Mezenhīmas šūnas regulē ļoti daudz bioloģisko funkciju, arī angiogēnēzi, brūču dzīšanu, imunitāti un neirālās funkcijas. Iespējams, ka mezenhīmas šūnu populāciju dažādība izskaidro to plašo terapeitisko efektivitāti *in vivo* apstākļos (16).

Arī ādā ir atrastas mezenhīmālās cilmes šūnas, kuras raksturo diferenciācija osteoblastu, hondrocītu, miocītu, adipocītu šūnu līnijās, kā arī mezenhīmas cilmes šūnām raksturīgie virsmas marķieri (17). Tomēr faktori, kas nosaka ādas cilmes šūnu pašatjaunošanos *in vitro*, vēl nav pilnībā izpētīti.

Pētījuma mērķis bija veikt dermas cilmes šūnu virsmas marķieru ekspresijas analīzi ar plūsmas citometrijas metodi un pierādīt FGF-2 lomu dermas cilmes šūnu plastiskuma autokrīnā regulācijā.

Materiāli un metodes

Dermas šūnu izolēšana un audzēšana *in vitro*

Dermas šūnas no cilvēka ādas tika iegūtas pēc iepriekš aprakstītas metodes (18, 19). Pēc apstrādes ar dispāzi (*Roche*) epiderma tika atdalīta no dermas, un tālāk sasmalcinātie dermas gabaliņi tika enzimatiski sašķelti ar kolagenāzi IV (*Sigma*). Izolētās dermas šūnas tika audzētas barotnē DMEM/F12 (attiecībā 3 : 1) ar 10% teļa serumu (*foetal bovine serum*, FBS, *Invitrogen*) un penicilīnu, streptomīcinu (100 u/ml un 100 µg/ml; *Invitrogen*) sterilos vienreizlietojamās šūnu kultūru traukos (*Costar*) 37 °C temperatūrā inkubatorā 90% mitrumā un 5% CO² atmosfērā. Sasniedzot 100% konfluenci, šūnas tripsinizēja ar 0,25% tripsīna/EDTA maisījumu (*Invitrogen*), veica skaitīšanu un noteica viabilitāti ar Tripānzilo, pēc tam šūnas pārstādīja šūnu traukos turpmākai kultivēšanai vai izmantoja citiem eksperimentiem.

Plūsmas citometrijas analīze

Dermas šūnas tika tripsinizētas, skaitītas un sadalītas pa FACS stobriņiem (1–2 x 10⁵ šūnu stobriņā). Paraugus iezīmēja ar šādām primārajām antivielām: CD90-FITC, CD34 (no *Dako*), CD73 (*Abcam*), CD105 (*R & D Systems*), CD45-FITC, CD14-

APC, HLA-DR-APC (no *BD Biosciences*) un izotipu kontroles IgG1-FITC (*Dako*), IgG1-PE, IgG2A-APC (no *BD Biosciences*) un IgG1 (*R & D Systems*). Pēc tam tos skaloja ar PBS un pievienoja sekundārās antivielas IgG-PE un IgG-APC (no *BD Biosciences*). Plūsmas citometriju veica ar *FACS Calibur* aparātu (*BD Biosciences*) un rezultātus apstrādāja ar *CellQuest* (*BD Biosciences*) programmu.

Diferenciācija mezenhīmas šūnu līnijās *in vitro*

Diferenciācija mezenhīmas cilmes šūnās tika veikta pēc iepriekš aprakstītas metodes (20). Dažos gadījumos šūnu diferenciācijas eksperimentā barotnei tika pievienots FGF-R1 inhibitors SU5402 (*Calbiochem*) un šķīdinātāja dimetilsulfoksīda (DMSO, *Invitrogen*) kontrole.

Adipoģenēze. No dermas izdalītās šūnas pēc tripsinizēšanas un šūnu skaita noteikšanas tika uzsētas trijās 24 lauciņu platēs (*Nunc*). Katrā lauciņā tika uzsētas 37×10^3 šūnas (vidējais uzsēšanas blīvums $\sim 2,1 \times 10^4$ šūnas/cm²) un kultivētas 0,5 ml MEM barotnē (*Invitrogen*) ar 10% teļa serumu (*Invitrogen*), penicilīna streptomicīna maisījumu (100 u/ml un 100 µg/ml; *Invitrogen*), līdz šūnas sasniedza 100% konfluenci. Pēc tam barotni nomainīja pret 0,5 ml adipocītu diferenciācijas barotni α MEM ar šādām piedevām: 10% teļa seruma, 0,2 mM indometacīna (*Sigma*), 1 µM deksametazona (*Sigma*), 0,5 mM 3-izobutil-1-metilksantīna (*Sigma*), 10 µg/ml cilvēka insulīna (*Sigma*). Diferenciācijas barotni mainīja ik pēc 3–4 dienām.

Osteoģenēze. No dermas izdalītās šūnas pēc tripsinizēšanas un šūnu skaita noteikšanas tika uzsētas trijās 24 lauciņu platēs. Katrā lauciņā uzsēja $7,4 \times 10^3$ šūnas (vidējais uzsēšanas blīvums $\sim 4,2 \times 10^3$ šūnas/cm²) un kultivēja 0,5 ml α MEM barotnē ar 10% FBS, penicilīna un streptomicīna piedevām, līdz šūnas sasniedza 70% konfluenci. Pēc tam α MEM barotni nomainīja pret 0,5 ml osteocītu diferenciācijas barotni α MEM un 10% teļa seruma, 10^{-7} M deksametazona (*Sigma*), 50 µM askorbīnskābes 2-fosfāta (*Sigma*), 10 mM β -glicerofosfāta (*Sigma*). Diferenciācijas barotni mainīja ik pēc 3–4 dienām.

Hondroģenēze. Dermas šūnas (250×10^3) centrifugēja 15 ml stobriņā 5 min pie 1200 apgriezieniem/min, atsūca šķidrums un nogulsnei 15 ml stobriņā pievienoja 0,5 ml hondrocītu diferenciācijas barotnes: DMEM/F12 (3 : 1), 0,5% FBS, 2 mM L-glutamīna, 100 µg/ml nātrija piruvāta (*Invitrogen*), 50 nM askorbīnskābes 2-fosfāta (*Sigma*), 10^{-7} M deksametazona (*Sigma*), 10 ng/ml transformējošā augšanas faktora b1 (TGF-b1) (*RnD Systems*), 10 µg/ml cilvēka insulīna (*RnD Systems*). Diferenciācijas barotni mainīja ik pēc 3 dienām.

Citoķīmiskā krāsošana

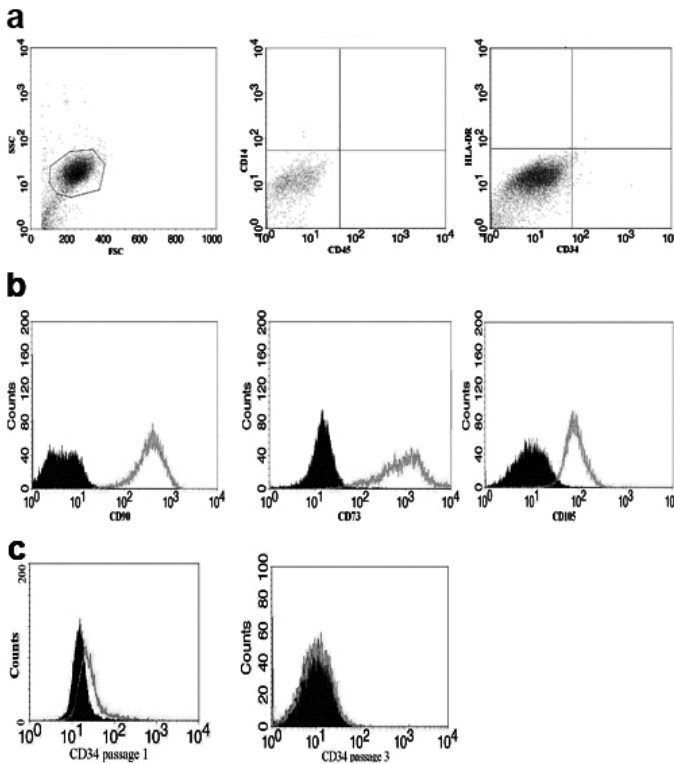
Adipoģenēze. Šūnu krāsošanu ar *Oil Red O* (*Sigma*) veica 24 lauciņu platēs. Šūnu paraugus fiksēja ar 60% izopropanolu. Pēc fiksēšanas atsūca izopropanolu un ļāva paraugiem pilnībā izžūt. Uz 10 minūtēm šūnām pievienoja *Oil Red O* šķīdumu istabas temperatūrā. Paraugus noskaloja ar ūdeni.

Osteoģenēze. Šūnu krāsošanu ar *Alizarin red S* (*Sigma*) veica 24 lauciņu platēs. Šūnas fiksēja ar ledusaukstu 70% etilspirtu 1 stundu, pēc tam mazgāja destilētā ūdenī. Ūdeni atsūca, un uz 2 minūtēm šūnām pievienoja 1% *Alizarin red S* istabas

temperatūrā. Pēc tam krāsvielu atsūca un šūnas vispirms 30 sekundes mazgāja ar 60% izopropanolu, tad 30 sekundes – ar absolūto izopropanolu.

Hondroģenēze. Pēc 28 dienām barotni atsūca un šūnu nogulsni fiksēja 4% paraformaldehīdā. Izveidojušos šūnu nogulsni sagrieza ar kriosekcijas metodi 8µ plānos griezumos, kurus uzlika uz *Superfrost Gold* priekšmetstikliņiem (*Thermo Scientific*). Paraugus krāsoja ar *Alcian blue* (*Fluka*) šķīdumu 15 minūtes istabas temperatūrā, pēc krāsošanas dehidratēja ar absolūto etilspirtu.

Visiem paraugiem uzklāja fiksējošu šķīdumu (*Dako*), uzlika segstikliņu un aplūkoja ar mikroskopu (*Leica DMI4000 B*). Attēlus apstrādāja programmā *Image-Pro® Express*.



1. attēls. Ādas cilmes šūnu virsmas marķieru ekspresijas analīze ar plūsmas citometrijas metodi: a – hematopoētisko virsmas marķieru analīze (CD14/CD45 un CD34/HLA-DR koekspresija); b – mezenhīmas marķieru CD90, CD73, CD105 analīze; c – CD34 analīze 1. un 3. pasāžas šūnās.

Figure 1. Flow cytometry analysis of skin-derived mesenchymal stem cell markers: a – haematopoietic cell surface marker analysis (co-expression of CD14/CD45 and CD34/HLA-DR); b – mesenchymal marker CD90, CD73, CD105 analysis; c – CD34 analysis in passage 1 and passage 3 skin-derived mesenchymal stem cells.

Rezultāti

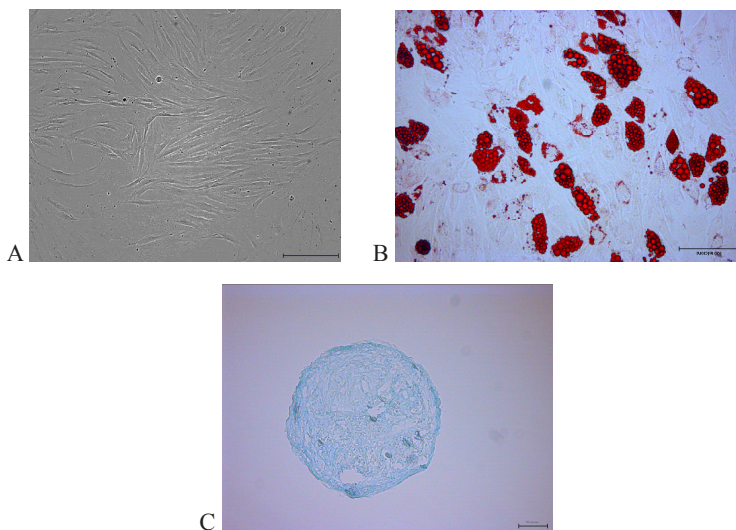
Dermas šūnas ekspresē mezenhimālo cilmes šūnu marķierus

Ar plūsmas citometrijas metodi tika pārbaudīta hemopoēzes marķieru CD14, CD45, HLA-DR un CD34 ekspresija ādas cilmes šūnās (sk. 1. att.). Rezultāti apstiprina, ka ādas cilmes šūnās nav ekspresēti CD14, CD45 un HLA-DR marķieri, taču bija vērojama neliela populācija CD34 pozitīvu šūnu (sk. 1. a att.). Savukārt 95% no analizētās ādas cilmes šūnu populācijas ekspresēja marķierus CD90, CD73 un CD105 (1. b att.), kas ir raksturīgi mezenhīmas cilmes šūnām. Balstoties uz šiem datiem, mēs secinām, ka no ādas izolētās priekšteču šūnas ir mezenhīmālās cilmes šūnas.

Salīdzinot 1. un 3. pasāžas šūnas, ir redzams, ka 1. pasāžā aptuveni 1,25% šūnu ekspresē CD34, savukārt 3. pasāžā CD34-pozitīvo šūnu skaits ir sarucis līdz 0,27% (1. c att.). Arī ar imūncitoķīmijas metodi ir novērots, ka līdz pat 80% no dermas izolēto šūnu ekspresē CD34 virsmas antigēnu (19).

Dermas cilmes šūnu diferenciācija mezenhīmas šūnu līnijās *in vitro*

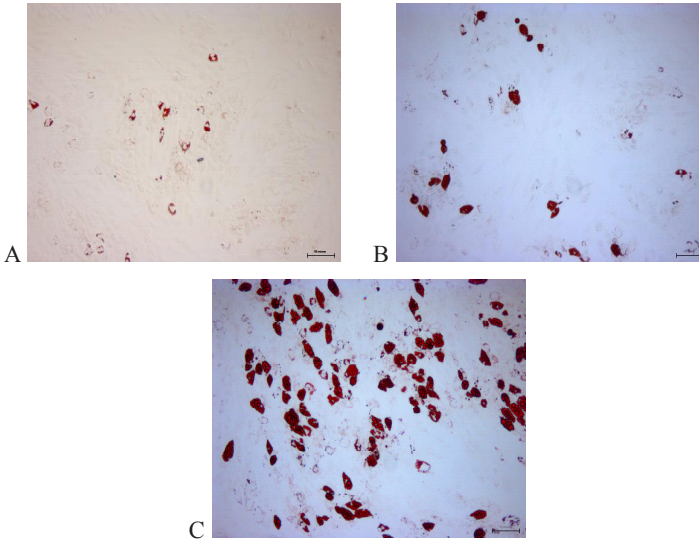
Barotnē DMEM/F12 ar 10% teļa seruma piedevu audzētas dermas cilmes šūnas ir adherentas šūnas ar fibroblastiem līdzīgu morfoloģiju (sk. 2. A att.), kas var augt kultūrā pat līdz vienam gadam (21). Šūnas piestiprinās pie flakona virsmas un aug monoslānī, turklāt to forma atgādina vārpstiņu (19, 22).



2. attēls. Dermas cilmes šūnu diferenciācija *in vitro*: A – nediferencētas dermas šūnas; B – adipogēze (Oil Red O krāsojums; 200 reižu palielinājums, garuma nogrieznis 100 μ); hondrogēze (Alcian blue krāsojums, 8 μ kriosekcija, 100 reižu palielinājums).

Figure 2. *In vitro* differentiation of dermal stem cells: A – dermal stem cells; B – adipogenesis (Oil Red O staining, magnification 200 times, size marker 100 μ); C – chondrogenesis (Alcian blue staining of 8 μ cryosection, magnification 100 times).

Diferenciācija mezenhīmas šūnu līnijās notiek īpašās barotnēs, kam pievienoti ķīmiski komponenti tādās kombinācijās un daudzumos (sk. Metodes), kas veicina šūnu specializāciju adipocītos, osteocītos vai hondrocītos. Jau pēc 7 dienām var konstatēt, ka ir notikusi diferenciācija adipocītos, par ko liecina šūnas morfoloģijas izmaiņas. Šūnām ir izveidojusies *in vitro* kultivētiem adipocītiem raksturīga morfoloģija ar labi saskatāmiem eļļas pūslīšiem citoplazmā (2. B att.). Otrās nedēļas beigās adipocītu skaits ir pieaudzis, un 3. nedēļas beigās novērots vēl lielāks diferencēto adipocītu skaits (3. att.).



3. attēls. Ādas mezenhīmālo cilmes šūnu adipogēnēze: adipocītu diferenciācija *in vitro* pēc pirmās (A), otrās (B) un trešās (C) nedēļas (Oil Red O krāsojums, 100 reīzu palielinājums, garuma nogrieznis 100 μ).

Figure 3. Skin mesenchymal stem cell adipogenesis *in vitro* after the first (A), second (B), and third (C) week (Oil Red O staining)

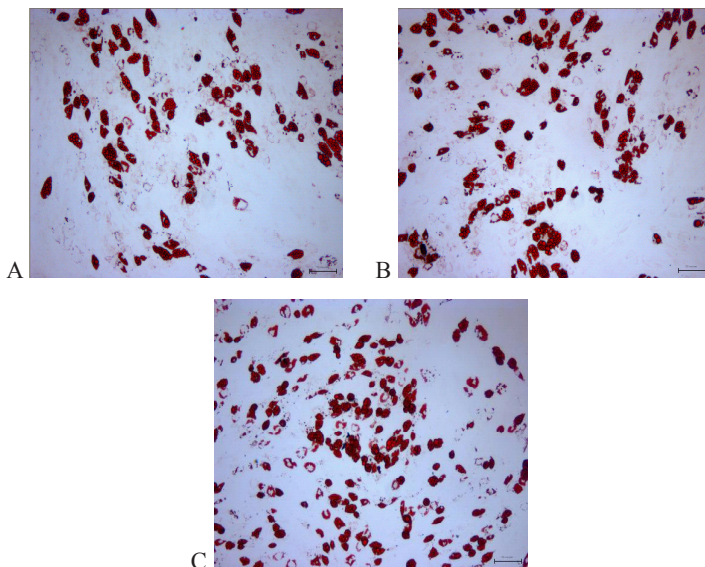
Hondroģenēzes eksperimenta 28. dienā novērojām, ka šūnu kultivēšanas barotnē bija izveidojusies kompakta, apaļa lodīte, kas liecina par trīsdimensionālas struktūras izveidošanos. Ar kriosekcijas metodi nogulsne tika sagriezta 8 μ plānos šķērs griezumos. Alcian blue krāsviela iekrāsoja skrimslim raksturīgos proteoglikānus zilā krāsā (2. C att.).

Osteocītu diferencēšanas barotnē blīvi augošās šūnās pēc nedēļas novērojām morfoloģiskas izmaiņas un daļēju minerālu izgulsnēšanos, ko varēja noteikt ar Alizarin S krāsošanas metodi (5. att.). Turpmākajās divās eksperimenta nedēļās pastiprinājās jau pirmajā nedēļā novērotās morfoloģiskās izmaiņas (rezultāti nav parādīti).

FGF-2 loma ādas mezenhīmālo cilmes šūnu diferenciācijas regulācijā

Salīdzinot šūnas parastā diferenciācijas barotnē un barotnē ar FGF-R1 inhibitoru, ir redzams, ka inhibitora klātbūtnē pieaug adipocītu skaits (4. att., 1. tabula), savukārt šķīdinātāja DMSO pievienošana neatstāj efektu uz adipocītu diferenciāciju. Jau

eksperimenta pirmajā nedēļā barotnē ar FGF-R1 inhibitoru ir vidēji 3,5 reizu vairāk adipocītu nekā kontroles barotnē. Adipocīti tika skaitīti trīs mikroskopa redzeslauka attēlos, tika aprēķināts vidējais lielums un standartnovirze.



4. attēls. Ādas mezenhimālo cilmes šūnu adipogēze *in vitro* FGF-R1 inhibitora klātbūtnē: A – parastā diferenciācijas barotnē; B – diferenciācijas barotnē ar DMSO; C – diferenciācijas barotnē ar FGF-R1 inhibitoru (100 reizu palielinājums, garuma nogrieznis 100 μ).

Figure 4. Effect of FGF-R1 inhibitor on skin-derived mesenchymal stem cell adipogenesis *in vitro*: A – conventional medium, B – medium with DMSO, C – medium with FGF-R1 inhibitor.

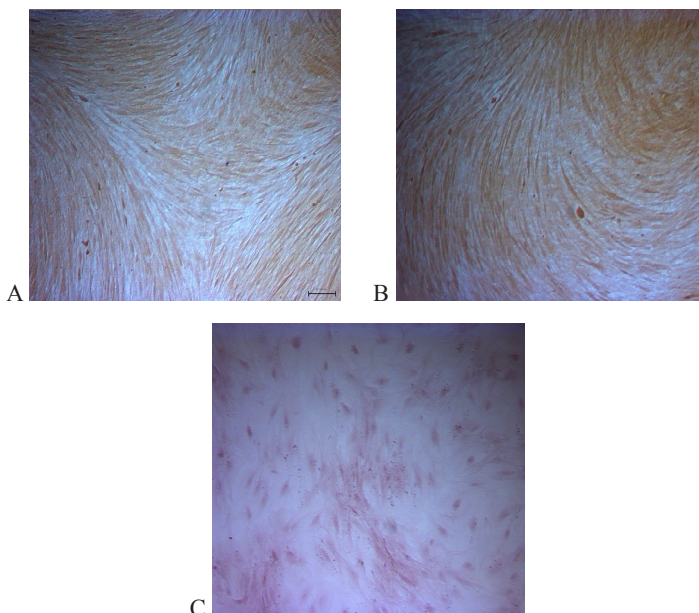
1. tabula

FGF-R1 inhibitora ietekme uz ādas mezenhimālo cilmes šūnu adipogēzi *in vitro* (n = 3)

Effect of FGF-R1 inhibitor on skin mesenchymal stem cell adipogenesis: mean value of adipocytes per screen (n = 3)

Adipocītu skaits redzeslaukā	Parastā barotnē	Barotnē ar DMSO	Barotnē ar FGF-R1 inhibitoru
Pēc 1. nedēļas	6 \pm 2	7 \pm 2	26 \pm 2
Pēc 2. nedēļas	14 \pm 2	15 \pm 2	26 \pm 2
Pēc 3. nedēļas	34 \pm 3	35 \pm 3	80 \pm 6

Osteocītu diferenciācija ir novērojama jau 7. dienā, un eksperimenta gaitā novērojamas morfoloģiskas izmaiņas. Citoķīmiskais krāsojums parāda, ka šūnas, kas kultivētas parastajās barotnēs un barotnēs ar DMSO, veido struktūras ar kalcija ieslēgumiem šūnās (*Alizarin red S* krāsojums). Lauciņos, kuros tika pievienots FGF-R1 inhibitors, šūnas nav tik blīvi saugušas, ir vairāk diferencētas, turklāt skaidrāk redzami minerālu izgulsnējumi (5. att.).



5. attēls. Ādas mezenhimālo cilmes šūnu *in vitro* osteogēnēze FGF-R1 inhibitoru klātbūtnē: A – parastā diferenciācijas barotnē; B – diferenciācijas barotnē ar FGF-R1 inhibitoru (100 reizu palielinājums).

Figure 5. Effect of FGF-R1 inhibitor on skin-derived mesenchymal stem cell osteogenesis in vitro: A – conventional medium, B – medium with DMSO, C – medium with FGF-R1 inhibitor (magnification 100 times).

Ādas mezenhimālo cilmes šūnu hondroģenēze noritēja veiksmīgi: gan barotnē ar FGF-R1 inhibitoru, gan parastā diferenciācijas barotnē bija novērojama šūnu lodīte, un kriosekciju iekrāsošana ar *Alcian blue* uzrādīja skrimslim raksturīgo krāsojumu (rezultāti nav parādīti).

Diskusija

Cilmes šūnas cilvēka ādā tika atklātas nesen – 2004. gadā (23). Jaunākie pētījumi rosina domāt, ka cilvēka ādā ir vismaz trīs veidu cilmes šūnas – epidermas bazālās šūnas, mata saknes šūnas un dermas šūnas (24–26). Pierādījumi liecina, ka ādas cilmes šūnas ir multipotentas – tām piemīt spēja pārveidoties par citiem orgāniem raksturīgām šūnām. Piemēram, no dermā un matu saknēs sastopamām cilmes šūnām ir iegūti neironi, Švāna šūnas, gludās muskulatūras šūnas, melanocīti un hondrocīti (20, 27, 28). Ņemot vērā to, ka āda ir visvieglāk pieejamais un vislielākais cilvēka orgāns (pieaugušam cilvēkam no 1,5 līdz 2 m² platībā) un gandrīz visa tās virsma ir salīdzinoši blīvi noklāta ar matu saknēm vai to aizmetņiem, ir saprotama plašā zinātnieku interese par ādas cilmes šūnu pētījumiem.

Mēģinājumi raksturot ādas cilmes šūnas pēc to virsmas marķieru ekspresijas liecina, ka tās ekspresē mezenhīmas cilmes šūnām līdzīgu fenotipu (17). Mūsu plūsmas citometrijas dati arī apstiprina mezenhīmas marķieru CD90, CD105, CD73 ekspresiju dermas šūnās. Savukārt mūsu novērojumi par CD34 ekspresiju agrīnās šūnu pasāžās, iespējams, liecina par endotēlija šūnu klātbūtni dermas šūnu kultūrās (29). Līdzīgi rezultāti ir iegūti arī citos pētījumos, kur konstatēja CD34 antigēna ekspresiju ādas cilmes šūnās pat līdz 15. pasāžai un šo šūnu populācijas spēju diferencēties mezenhīmas šūnu līnijās *in vitro* (30, 31).

No dermas iegūtās cilmes šūnas literatūrā tiek sauktas dažādi – ādas prekursoru šūnas, fibroblastiem līdzīgās šūnas, fibroblastoīdi u. c. (20, 27, 32). Taču mezenhīmas marķieru CD73, CD90 un CD105 ekspresija un diferenciācija trīs mezenhīmas šūnu līnijās (adipocītos, osteocītos, hondrocītos) ļauj mums tās dēvēt par ādas mezenhimālām cilmes šūnām.

Ir izpētīts, ka ādas cilmes šūnas *in vitro* kultūrā sekretē nozīmīgu daudzumu FGF-2, kas rosina domāt par FGF-2 lomu cilmes šūnu populācijas pašatjaunošanās autokrīnā regulācijā (33, 34). Līdzīgos pētījumos embrionālo un adipozo audu cilmes šūnās ir konstatēts, ka, bloķējot FGF-2 receptoru, notiek spontāna šūnu diferencēšanās adipocītos un hondrocītos (9, 10). Mēs novērojām, ka FGF-R1 inhibīcija ievērojami pastiprināja ādas mezenhīmas cilmes šūnu adipoģenēzi un osteoģenēzi. Savukārt par FGF-R1 inhibitora efektu uz hondroģenēzi secinājumus izdarīt būtu pārāgri, jo analīzei nepieciešams lielāks paraugu skaits.

Galvenais secinājums: bloķējot FGF-2 receptoru, novērojama ādas mezenhimālo cilmes šūnu pastiprināta diferenciācija adipocītos un osteocītos. Turpmāki pētījumi par FGF-2 ierosinātām signālu kaskādēm sniegtu atbildes uz jautājumiem par autokrīnās regulācijas mehānismiem ādas mezenhimālajās cilmes šūnās.

Pateicības

Pateicamies Dr. Dambrovai un Dr. Liepiņam no Latvijas Organiskās sintēzes institūta Farmaceutiskās farmakoloģijas laboratorijas par sadarbību. Paldies par atbalstu Eiropas Rekonstrukcijas un attīstības fonda projektam VPD/ERAF/CFLA/05/APK/2.5.2./000072/036, Eiropas Sociālā fonda grantam doktorantiem un jaunajiem zinātniekiem, LU pētnieciskajam projektam ZP-131 un Latvijas Zinātnes padomes grantam Nr. 08.2193.

Izmantotie informācijas avoti

1. Hochedlinger, K. and Jaenisch, R. Nuclear reprogramming and pluripotency. *Nature*. June, 2006; Vol. 441, 1061–1067.
2. Korbling, M., Estrov, Z. Adult stem cells for tissue repair – a new therapeutic concept? *N. Engl. J. Med.* 2003; Aug. 7, 349(6): 570–582.
3. Othman, M., Lu, C., Klueber, K., Winstead, W., Roisen, F. Clonal analysis of adult human olfactory neurosphere forming cells. *Biotech. Histochem.* 2005; Sep.-Dec.; 80(5–6): 189–200.

4. Meng, X., Ichim, T. E., Zhong, J., Rogers, A., Yin, Z., Jackson, J., Wang, H., Ge, W., Bogin, V., Chan, K. W., Thébaut, B., Riordan, N. H. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J. Transl. Med.* 2007; Nov. 15; 5: 57.
5. Ratajczak, M. Z., Machalinski, B., Wojakowski, W., Ratajczak, J., Kucia, M. A hypothesis for an embryonic origin of pluripotent Oct-4(+) stem cells in adult bone marrow and other tissues. *Leukemia.* 2007; May; 21(5): 860–867.
6. Fuchs, E., Tumber, T., Guasch, G. Socializing with the neighbours: stem cells and their niche. *Cell.* 2004; 41: 683–686.
7. Dvorak, P., Dvorakova, D., Hampl, A. Fibroblast growth factor signaling in embryonic and cancer stem cells. *FEBS Lett.* 2006; May 22; 580(12): 2869–2874.
8. Constantinescu, S. Stemness, fusion and renewal of hematopoietic and embryonic stem cells. *J. Cell Mol. Med.* 2003; Apr.-Jun.; 7(2): 103–112.
9. Dvorak, P., Dvorakova, D., Koskova, S., Vodinska, M., Najvirtova, M., Krekac, D., Hampl, A. Expression and potential role of fibroblast growth factor 2 and its receptors in human embryonic stem cells. *Stem Cells.* 2005; Sep.; 23(8): 1200–1211.
10. Rider, D. A., Dombrowski, C., Sawyer, A. A., Ng, G. H., Leong, D., Huttmacher, D. W., Nurcombe, V., Cool, S. M. Autocrine fibroblast growth factor 2 increases the multipotentiality of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells.* 2008; June, 26(6): 1598–1608.
11. Lindvall, O., Kokaia, Z. Stem cells for the treatment of neurological disorders. *Nature.* 2006; June 29, 441(7097): 1094–1096.
12. Lemoli, R. M., Bertolini, F., Cancedda, R., De Luca, M., Del Santo, A., Ferrari, G., Ferrari, S., Martino, G., Mavilio, F., Tura, S. Stem cell plasticity: time for a reappraisal? *Haematologica.* 2005; March; 90(3): 360–381.
13. Wollert, K. C. and Drexler, H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ. Res.* 2005; 96: 151–163.
14. Klein, H. M., Ghodsizad, A., Marktanner, R., Poll, L., Voelkel, T., Mohammad Hasani, M. R., Piechaczek, C., Feifel, N., Stocksclaeder, M., Burchardt, E. R., Kar, B. J., Gregoric, I., Gams, E. Intramyocardial implantation of CD133+ stem cells improved cardiac function without bypass surgery. *Heart Surg Forum.* 2007; 10(1): E 66–69.
15. Phinney, D. G., Prockop, D. J. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair – current views. *Stem Cells.* 2007; Nov.; 25(11): 2896–2902.
16. Prockop, D. J. “Stemness” does not explain the repair of many tissues by mesenchymal stem/multipotent stromal cells (MSCs). *Clin. Pharmacol. Ther.* 2007; Sep.; 82(3): 241–243.
17. Lorenz, K., Sicker, M., Schmelzer, E., Rupf, T., Salvetter, J., Schulz-Siegmund, M., Bader, A. Multilineage differentiation potential of human dermal skin-derived fibroblasts. *Exp. Dermatol.* 2008; June, 14 [E-publication ahead of print].
18. Toma, J. G., Akhavan, M., Fernandes, K. J. et al. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nature Cell Biol.* 2001; 3: 778–784.
19. Riekstiņa, U., Muceniece, R., Čakstiņa, I., Ancāns, J. Cilvēka ādas cilmes šūnu iegūšana un pavairošana *in vitro*. *Acta Universitatis Latviensis, Medicine.* 2007; 735: 107–114.
20. Shih, D. T., Lee, D. C., Chen, S. C., Tsai, R. Y., Huang, C. T., Tsai, C. C., Shen, E. Y., Chiu, W. T. Isolation and characterization of neurogenic mesenchymal stem cells in human scalp tissue. *Stem Cells.* 2005; Aug., 23(7): 1012–1020.

21. Borodušķis, M. *Cilvēka ādas cilmes šūnu in vitro diferencēšanās mezenhimālās līnijas šūnās, bakalaura darbs*. LU, 2008.
22. Parfejevs, V. *Dermas šūnu in vitro diferencēšana mezenhīmas šūnu līnijās, bakalaura darbs*. LU, 2008.
23. Blanpain, C., Lowry, W. E., Geoghegan, A., Polak, L. and Fuchs, E. Self-Renewal, Multipotency, and the Existence of Two Cell Populations within an Epithelial Stem Cell Niche. *Cell*. Sept. 3, 2004; Vol. 118, 635–648.
24. Blanpain, C., Fuchs, E. Epidermal stem cells of the skin. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2006; 22: 339–373.
25. Watt, F. M., Celso, C. L. and Silva-Vargas, V. Epidermal stem cells: an update. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2006; 16: 518–524.
26. Cotsarelis, G. Gene expression profiling gets to the root of human hair follicle stem cells. *The Journal of Clinical Investigation*. 2006; January; Volume 116: No. 1.
27. Toma, J. G., McKenzie, I. A., Bagli, D., Millera, F. D. Isolation and Characterization of Multipotent Skin-Derived Precursors from Human Skin. *Stem Cells*. 2005; 23: 727–737.
28. Wong, C. E., Paratore, C., Dours-Zimmermann, M. T., Rochat, A., Pietri, T., Suter, U., Zimmermann, D. R., Dufour, S., Thiery, J. P., Meijer, D., Beermann, F., Barrandon, Y., Sommer, L. Neural crest-derived cells with stem cell features can be traced back to multiple lineages in the adult skin. *J. Cell Biol.* 2006; 175(6): 1005–1015.
29. Erdag, G., Qureshi, H. S., Patterson, J. W., Wick, M. R. CD34-positive dendritic cells disappear from scars but are increased in pericatricial tissue. *J. Cutan Pathol.* 2008; Aug.; 35(8): 752–756.
30. Belicchi, M., Pisati, F., Lopa, R., Porretti, L., Fortunato, F., Sironi, M., Scalamogna, M., Parati, E. A., Bresolin, N., Torrente, Y. Human skin-derived stem cells migrate throughout forebrain and differentiate into astrocytes after injection into adult mouse brain. *J. Neurosci. Res.* 2004; Aug. 15; 77(4): 475–486.
31. Kaiser, S., Hackanson, B., Follo, M. et al. BM cells giving rise to MSC in culture have a heterogeneous CD34 and CD45 phenotype. *Cytotherapy*. 2007; 9(5): 439–450.
32. Sudo, K., Kanno, M., Miharada, K., Ogawa, S., Hiroyama, T., Saijo, K., Nakamura, Y. Mesenchymal progenitors able to differentiate into osteogenic, chondrogenic, and/or adipogenic cells in vitro are present in most primary fibroblast-like cell populations. *Stem Cells*. 2007; Jul.; 25(7): 1610–1617.
33. Riekstiņa, U., Muceniece, R., Čakstiņa, I., Muiznieks, I., Ancāns, J. *Characterization of skin-derived mesenchymal stem cell proliferation rate in different growth conditions.* (Iesniegts publicēšanai.)
34. Laizāne, A. *FGF-2 sekrēcija ādas cilmes šūnu kultūrās, bakalaura darbs*. LU, 2008.

Summary

Intense studies on stem cells have confirmed their general properties: capability of dividing and renewing themselves for long periods, maintenance of unspecialized status, and ability to differentiate into specialized cell types. Future stem cell therapy is focused on using patients' own stem cells to regenerate tissue and treat a large variety of disorders. Skin has attracted special attention due to the fact that skin stem cells serve as a reservoir for numerous cell lineages. It has been reported that multipotent cells from the human skin are able to differentiate into mesenchymal cells (osteocytes, adipocytes,

and chondrocytes) in the special differentiation media. Thus, skin stem cells are potential candidates for the regenerative therapy. We have previously shown that stem cells from human dermis secrete basic fibroblast growth factor (FGF-2), thus permitting to assume that FGF-2 has a role in the autocrine regulation of dermal stem cell self-renewal.

The aim of this study was to characterize stem cell marker expression on human skin-derived precursor cells by flow cytometry analysis and to analyze the effect of FGF-2 receptor 1 (FGF-R1) inhibitor on stem cell differentiation. Our results clearly demonstrated that skin mesenchymal stem cell adipogenesis and osteogenesis is accelerated in the presence of FGF-R1 inhibitor; thus indirectly supporting our hypothesis of FGF-2 role in the regulation of dermal stem cell self-renewal.

Further research will be carried out to study FGF-2 downstream intracellular signaling events.

Keywords: skin mesenchymal stem cells, FGF-2, FGF-R1, flow cytometry, differentiation.

Neinvazīvu izmeklēšanas metožu salīdzinājums agrīnas bronhiālās astmas diagnostikā

Comparison of Non-Invasive Diagnostic Methods in the Evaluation of Patients with Suspected Bronchial Asthma

Gunta Strazda,¹ Normunds Jurka,² Māris Bukovskis,² Zanda Balode,¹
Sergejs Isajevs,¹ Uldis Kopeika,² Immanuels Taivans¹

¹ Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte

Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001, e-pasts: gunta.strazda@lu.lv

² Latvijas Universitātes EKMI, O. Vācieša iela 4, Rīga, LV-1004

Pētījuma mērķis bija novērtēt izelpotā slāpekļa oksīda koncentrācijas (eNO) mērījuma lietderību agrīnas bronhiālās astmas diagnostiskā. eNO līmenis tika salīdzināts ar metaholīna bronhu provokācijas testu (BPT PD₂₀), kas ir standartmērījums bronhu hiperreaktivitātes novērtēšanā. Pētījumā piedalījās 44 pieaugušie, kam bija nozīmēts bronhu provokācijas tests (BPT). Tika konstatēta būtiska korelācija starp BPT PD₂₀ rādījumu un izelpotā eNO koncentrāciju $r = 0,37$ ($p = 0,0132$). eNO metodes sensitivitāte astmas diagnostikai bija 53%, savukārt metodes specifiskums – 63%. eNO ir neinvazīvs un vienkāršs mērījums, tāpēc tas var tikt izmantots kā papildu izmeklējums BA diagnostikā.

Atslēgvārdi: bronhiālā astma, diagnostika, izelpotais slāpekļa oksīds, bronhu hiperreaktivitāte.

Rakstā lietotie saīsinājumi:

1. BA – bronhiālā astma.
2. eNO – slāpekļa oksīda koncentrācija izelpas gaisā.
3. FEV₁ – no plaušām izplūstošais gaisa daudzums maksimāli spēcīgas izelpas pirmajā sekundē, kas sāka pēc pilnas ieelpas.
4. FVC – gaisa daudzums, ko var izpūst maksimāli spēcīgas un pilnas izelpas laikā, kas sāka pēc pilnas – maksimāli dziļas ieelpas.
5. FEV₁/FVC% – Tifno indekss – matemātiski aprēķināts lielums.
6. HOPS – hroniska obstruktīva plaušu slimība.
7. NOS2 – NO sintāzes 2. izoforma (inducējamā).
8. PD20 – bronhus provocējošā aģenta (metaholīna) deva < 4,69 mg/ml, kas izraisa FEV₁ samazināšanos vismaz par 20%.
9. ppb – *particles per billion* – eNO mērvienība.

Ievads un literatūras apskats

Saskaņā ar Pasaules veselības organizācijas datiem nemitīgi pieaug bronhiālās astmas (BA) slimnieku skaits un pasaulē šādu slimnieku varētu būt ap 300 miljoni.

Latvijā astmas izplatība sasniedz aptuveni 4,5% no iedzīvotāju skaita.^{1, 2} Turpina pieaugt BA izraisošo faktoru skaits – vides piesārņojums, piesārņojums darbavietās, aerogēno alergēnu skaits u. c. Arī endogēno – gan ģenētisko, gan iegūto BA izraisošo faktoru daudzums pieaug.³ Ņemot vērā iepriekšminēto, agrīna BA diagnostika ir īpaši svarīga, jo tā ļauj laikus sākt pareizu terapiju un nodrošināt pacientiem normālu dzīves kvalitāti.

Ir zināms, ka BA ir hroniska iekaisuma slimība, kurai raksturīga iekaisuma šūnu klātbūtne un dažādu iekaisuma mediatoru izdalīšanās elpceļos.⁴ Iekaisums izraisa elpceļu obstrukciju, bronhu hiperreaktivitāti un elpceļu sienīņu pārstrukturēšanos.⁵ Vadoties no patoģenēzes, BA diagnostika tiek balstīta uz vispārpieņemtiem principiem, piemēram, pacienta anamnēzes ievākšanu, kas uzrāda specifiskus simptomus, izelpas maksimuma plūsmas mērījumu diennakts svārstību novērtēšanu, FEV₁ pārmaiņu novērtēšanu ar spirometrijas palīdzību un bronhodilatatora efekta izvērtēšanu, kā arī bronhu provokācijas testu, kas ļauj atklāt bronhu hiperreaktivitāti. Visām minētajām metodēm ir trūkumi. Pacienta sūdzības un anamnēze ir ļoti subjektīvi rādītāji. Izelpas maksimuma plūsmas mērījumi jāveic ar maksimālu piepūli un regulāri vairāku nedēļu garumā, kas prasa līdzestību un lielu atdevi no pacienta. Spirogrāfija pirms un pēc bronholītiķa ir objektīvs tests, taču tas ļauj atklāt bronhiālo astmu tikai tad, ja mērījuma brīdī ir palielināts bronhu muskuļu tonuss. Goldsteina un citu pētījumā tika konstatēts, ka 79% pacientu ar vieglu BA FEV₁ pieaugums pēc bronhodilatatora neparādās un testa jutība ir tikai 6%.⁶

Par ticamāko testu BA diagnostikā tiek uzskatīts bronhu provokācijas tests ar metaholīnu, kas ļauj novērtēt bronhu hiperreaktivitāti jeb paaugstinātu elpceļu jutību.⁷ Ir zināms, ka minētais ir augstākās ticamības tests elpceļu hiperreaktivitātes novērtēšanai, kas dod pozitīvu rezultātu gandrīz visos gadījumos pacientiem ar simptomātisku bronhiālo astmu. Šo testu specifiskums atbilst 100%, savukārt jutība – 86% (Goldstein et al. Chest 2001), savukārt pēc citu autoru datiem – pat 91%.⁸ Diemžēl bronhu provokācijas tests aizņem daudz laika, ir dārgs un pastāv neliels risks izraisīt diezgan smagu bronhospasmu. Šo metodi grūti pielietot bērniem. Kaut arī negatīvs bronhu provokācijas tests ļauj izslēgt astmas diagnozi, pozitīvs tests nenorāda uz astmas esamību, jo arī citu slimību gadījumos (HOPS, cistiskā fibroze) var veidoties bronhu hiperreaktivitāte, gan salīdzinoši vājāka.⁹ Bronhu provokācijas testu ir grūti sajūgt ar iekaisuma smaguma pakāpi elpceļos.

Tā kā elpceļu iekaisums ir obligāta BA izpausme, tā tiešs mērījums un novērtējums būtu lietderīgs papildu kritērijs BA diagnostikā un terapijas efektivitātes novērtēšanā. Iekaisuma intensitāti var novērtēt pēc leukocītu spektra bronho-alveolārās lavāžas šķidrumā, bet tā iegūšanai jāveic bronhoskopija, kas ir invazīva metode. Ierosināto krēpu izmeklējums ir relatīvi neinvazīva metode un sniedz būtisku informāciju par iekaisumu elpceļos. Kā astmas diagnostikas metodei tai ir augsta sensitivitāte (72%) un specifiskums (80%).¹⁰ Tomēr krēpu indukcija izraisa īslaicīgu elpceļu funkcionālo rādītāju samazināšanos, krēpu apstrāde ir dārga, prasa daudz laika un ir darbietilpīga, turklāt iegūtā materiāla izvērtēšanai ir nepieciešams augsti kvalificēts speciālists. Tāpēc šī metode nav iegājusi ikdienas klīniskajā praksē ne Latvijā, ne citās valstīs.

Pēdējā laikā pieaug interese par izelpotā gaisa sastāvu un metodēm, kas ļautu neinvazīvi izvērtēt iekaisumu un oksidatīvo stresu plaušu slimību gadījumos.

Pētījumos ir konstatēts palielināts izelpotā NO daudzums BA pacientiem, kas lielākoties izdalās no perifēro elpceļu epitēlija un iekaisuma šūnām, piemēram, alveolārajiem makrofāgiem un eozinofilajiem leikocītiem NOS₂ aktivācijas rezultātā.¹¹ NOS₂ ir slāpekļa oksīda sintāzes inducējama izoforma, kas veidojas aktivētās iekaisuma šūnās. Šis ferments veido slāpekļa oksīdu no L-arginīna, pārvēršot pēdējo citrulīnā.¹² Ir veikti pētījumi, kas parāda, ka iekaisuma izdalītie citokīni inducē NOS₂ ekspresiju arī kultivētās cilvēka elpceļu epitēlijšūnās.¹³ NO arī var būt par iemeslu elpceļu hiperreaktivitātei vai iekaisumam. Lielās koncentrācijās NO var izraisīt elpceļu tūsku, jo šis savienojums darbojas kā spēcīgs vazodilatators un palielina plazmas eksudāciju no elpceļu asinsvadiem.¹⁴ Izmantojot dzīvnieku modeļus ar BA raksturīgo iekaisumu, ir konstatēts, ka NO veicina eozinofilo leikocītu piesaisti, pastiprinot iekaisumu elpceļos.¹⁵

Izelpotais NO ir visvairāk pētītais izelpas marķieris, un tā pieaugums ir konstatējams daudzu slimību gadījumos, piemēram, pacientiem ar sinusītu, vīrusu izraisītu augšējo elpceļu infekcijām, plaušu transplantāta atgrūšanas reakciju¹⁶ un īpaši BA gadījumā.^{17, 18} Noskaidrots, ka eNO nav palielināts pacientiem ar HOPS,¹⁹ cistisko fibrozi²⁰ un bronhektāzēm.²¹ Izelpotā NO mērīšanas tehnoloģija ir pilnībā neinvazīva, var tikt izmantota atkārtoti ar nelielu intervālu, smagu patoloģiju gadījumos un arī izvērtējot pārmaiņas elpceļos maziem bērniem. NO koncentrācijas noteikšana izelpas gaisā ļauj diagnosticēt BA, taču tas nav iespējams visos patoloģijas gadījumos. Ir izdalīti tā sauktie BA fenotipi,²² kas ietver sevī daudzveidīgas BA iekaisuma un klīniskās īpatnības, kā arī dažādu eNO līmeni. Attīstoties izpratnei par BA patoģenēzi, ir noskaidrots, ka vismaz pusei BA pacientu elpceļos ir eozinofils iekaisums, kura gadījumā arī ir raksturīgs palielināts eNO daudzums.²³ Vieglas BA gadījumā ir konstatēta cieša sakarība starp palielinātu izelpotā NO līmeni, ādas skarifikācijas testiem, kopējo IgE²⁴ un asins eozinofiliju.²⁵ Gan pieaugušajiem, gan bērniem ar atopisku BA ir augstāks izelpotā NO līmenis salīdzinājumā ar pacientiem, kam ir neatopiska BA, pat gadījumos, kad neparādās elpceļu hiperreaktivitāte.²⁶ Ir konstatēts, ka terapija ar glikokortikosteroīdiem BA pacientiem atkarībā no devas samazina eNO līmeni^{27, 28, 29}. eNO testa lietderība BA diagnostikai šobrīd tiek pētīta. Čatkins (*Chatkin*) un citi³⁰ pierāda, ka izelpas NO var tikt izmantots BA diagnostikā pacientiem ar hronisku klepu. Duponts (*Dupont*) un citi³¹ atklāj, ka izelpas NO mērījums virs 16 ppb liecina par BA diagnozi. Deikins (*Deykin*) un citi³² parāda, ka eNO mērījums ļauj diferencēt veselos cilvēkus no BA pacientiem, savukārt Smits (*Smith*) un citi³³ konstatē, ka eNO mērījums BA diagnostikā ir labāks par spirometriju un pīķa plūsmas diennakts svārstību novērtēšanu, kā arī salīdzināms ar krēpu eozinofiliju. Tiek pētīta eNO korelācija ar elpceļu hiperreaktivitāti, kā arī ar eozinofilo leikocītu daudzumu inducētās krēpās.³⁴ Pieaug pētījumu skaists, kas apstiprina korelāciju starp eNO rādījumu (ppb) un bronhu provokācijas testa iegūto PD₂₀ mērījumu,³⁵ bet tajā pašā laikā ir publikācijas, kurās šāda korelācija tiek noliegta,^{36, 37} kas pamato mūsu pētījuma mērķi.

Par **pētījuma mērķi** tika izvirzīts – salīdzinot ar citām neinvazīvām metodēm, novērtēt eNO lietderību agrīnas bronhiālās astmas diagnostikai. Lai realizētu iecerēto, darba uzdevumos ietilpa salīdzinoši izvērtēt NO rādījumu izelpas gaisā ar spirogrāfijas rādītājiem – FVC, FEV₁, FEV₁/FVC%, bronhu provokācijas testa rezultātiem (PD₂₀) un BA raksturīgiem pacienta simptomiem.

Materiāls un metodes

Pētījuma pacienti

Pētījumā tika iekļauti pacienti, kas 2008. gada aprīlī un maijā bija nosūtīti uz Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Funkcionālās diagnostikas nodaļu ar elpceļu simptomiem iespējamās BA diagnozes izvērtēšanai ar bronhu provokācijas testa palīdzību. Četras nedēļas pirms izmeklēšanas pacienti netika ārstēti ar medikamentiem, kas varētu ietekmēt plaušu funkcijas, bronhoprovokācijas un FeNO noteikšanas rezultātus. Smēķēšana pazemina NO koncentrāciju izelpas gaisā, tāpēc šiem pacientiem tika lūgts nesmēķēt vismaz vienu stundu pirms izmeklēšanas.

Pirms izmeklēšanas tika veikta pacientu aptauja, kurā bija iekļauti jautājumi par simptomiem, astmu ģimenes anamnēzē, alerģijas izpausmēm, aizdusu fiziskas slodzes vai citu apstākļu ietekmē, klepu, elpošanas sistēmas infekciju slimībām, smēķēšanas ieradumiem.

NO noteikšana izelpas gaisā

Pirms bronhu provokācijas testa pacientiem tika veikts eNO mērījums ar aparātu *NIOX® MINO (Aerocrine, Zviedrija)*.³⁸ NO mērīšana balstās uz jutīgu hemiluminiscences analizatoru izmantošanu.^{39, 40} Lietojot šo aparāturu, optimālais pacienta izelpas laiks ir aptuveni 10 sekundes, savukārt izelpas plūsmas ātrums – 50 ml/min. Lai panāktu minēto, pacientiem lūdza veikt izelpu, pēc tam maksimāli dziļu ieelpu caur eNO mērītāja iemuti un 10 sekundes ilgu, vienmērīgu, lēnu izelpu, kas tika kontrolēta ar skaņas signāla un attēla palīdzību uz aparāta displeja.

Par eNO koncentrācijas augšējo robežu tika pieņemta vērtība, kas lielāka par 20 ppb. Minētās aparatūras apraksts sniedz informāciju, ka vesela pieauguša cilvēka izelpas gaisā NO molekulu daudzums ir no 5 līdz 20 ppb. Ja skaits ir robežās no 20 līdz 35 ppb, tad diezgan droši var spriest par eozinofilā iekaisuma iespējamību pacienta elpceļos. Ja rādījums pārsniedz 35 ppb, tad minētā iekaisuma iespējamība ir ļoti ticama.

Spirogrāfija un bronhoprovokācijas tests

Pirms bronhu provokācijas testa tika veikta spirogrāfija, kas šajā gadījumā bija obligāts mērījums. Bronhu provokācijas tests tika veikts saskaņā ar Eiropas Respiratorās biedrības (ERS) rekomendācijām.⁴¹ Precīzs pielietotās metodes apraksts ir Taivana un citu rakstā.⁴² Tika izmantots kalibrēts *Jaeger* firmas spirogrāfs. FEV₁ pārmaiņas procentuāli pēc katras inhalētās provoholīna (metaholīna) devas tika reģistrētas pēc vienas minūtes. Par pozitīvu bronhu provokācijas tests tika uzskatīts gadījumā, ja FEV₁ samazināšanās par 20% tika konstatēta, kad pacients bija saņēmis par 4,7 mg/ml mazāku provoholīna kumulācijas devu. Provoholīna kumulācijas deva, kura izraisa FEV₁ samazināšanos par 20% (PD₂₀), tika aprēķināta ar speciālas datorprogrammas palīdzību, kas uzrāda bronhu hiperreaktivitātes smaguma pakāpi atbilstīgi provocējošās devas lielumam. Pozitīva bronhoprovokācijas testa gadījumā pacientiem tika diagnosticēta bronhiālā astma.

Datu statistiskā apstrāde

Datu apstrādei tika izmantota statistikas programma “*Statistica 6.0*”. Grupas tika salīdzinātas, izmantojot vienfaktora dispersijas analīzi ANOVA. Starp eNO un PD₂₀ tika veikta vienfaktora regresijas analīze. Gadījumos, kad dati neatbilda normālajam sadalījumam, tika veikta datu transformācija, savukārt pēc statistiskās analīzes – pretēja transformācija. Kvalitatīvu datu gadījumā tika veikta neparametriskā Spīrmana rangu korelācija. Atšķirības starp grupām, korelācijām un regresijām tika uzskatītas par būtiskām, ja $p < 0,05$.

Rezultāti

Pētījumā tika iekļauti 44 pacienti, no kuriem 9 bija vīrieši un 35 sievietes. Pacientu vidējais vecums bija 41,2 gadi (18–76). No pētījumā iekļautajiem pacientiem tikai četri bija smēķētāji. Visiem pacientiem, sākot izmeklējumu FEV₁ un FEV₁/FVC%, rādījums bija $\geq 70\%$.

Rezultāti, kas ietver informāciju par pētījumā iekļauto pacientu demogrāfiskajiem datiem, vidējie spirometrijas rādījumi (FEV₁, FVC, FEV₁/FVC%), uzsākot bronhu provokācijas testu, bronhoprovokācijas PD₂₀ rādījumi, kā arī eNO (ppb) rādījumi pacientiem ar un bez BA ir apkopoti 1. tabulā.

1. tabula

Pētījumā iekļauto pacientu raksturojums.

Characteristics of the studied patients

Parametri	Pacienti ar paaugstinātu bronhu reaktivitāti (n = 19) - 95% + 95% (ticamības intervāls)	Pacienti ar normālu bronhu reaktivitāti (n = 25) - 95% + 95% (ticamības intervāls)	P vērtība
Vecums	41,5 ± 8,3 (19–76)	40,4 ± 7,0 (18–74)	0,840
Dzimums (M:F)	3 / 16	6 / 19	
Augums	168,2 ± 3,9	169,2 ± 4,2	0,747
Svars	76,7 ± 6,6	77,6 ± 6,8	0,915
FEV ₁ (% no normas)	95,1 ± 5,7	106,3 ± 5,0	0,0049
FVC (% no normas)	105,9 ± 4,6	106,0 ± 5,3	0,959
FEV ₁ /FVC%	76,2 ± 2,9	84,6 ± 2,5	0,00007
eNO (ppb)	22,3 (-15,7 +31,7)	11,9 (-8,80 +16,2)	0,009
PD20 (mg/ml)	1,5 (-1,1 +2,0)	> 4,7	

Mūsu pētījumā tika pierādīts, ka pacientiem ar paaugstinātu bronhu reaktivitāti ir statistiski ticami ($p = 0,009$) palielināta izelpotā NO koncentrācija (sk. 1. att.). Mēs konstatējām, ka NO koncentrācija izelpas gaisā bija palielināta 10 pacientiem no 19 jeb 53% pacientu ar bronhu hiperreaktivitāti, kas atspoguļo metodes sensitivitāti, un metodes specifitāte atbilda 63%. Savukārt 25% pacientu (6 pacientiem no 25), kam netika atklāta paaugstināta bronhu reaktivitāte, arī bija palielināts eNO rādījums.

Izmeklētajiem pacientiem ar bronhu hiperreaktivitāti mēs konstatējām arī statistiski ticami zemākus plaušu funkcijas rādītājus FEV₁% ($p = 0,0049$) un FEV₁/FVC% ($p = 0,00007$), salīdzinot ar tiem, kam bronhu reaktivitāte bija normāla (sk. 2. un 3. att.).

Tika atklāta vāja, bet statistiski ticami negatīva korelācija starp eNO un FEV₁/FVC% ($r = -0,303$; $p = 0,0453$) (sk. 4. att.). Netika konstatēta ticama korelācija starp eNO un FEV₁%, kā arī FVC% (attiecīgi $r = -0,194$; $p = 0,208$ un $r = -0,0114$; $p = 0,941$).

Aptaujas dati liecina, ka pacienti visvairāk sūdzējās par klepu ($n = 35$), elpas trūkumu ($n = 24$), spiediņu jeb smaguma sajūtu krūšu kurvī ($n = 23$) un sāpošu elpu ($n = 19$). Spīrmana neparametriskā rangu korelācijas analīze neuzrādīja saistību starp eNO un dažiem BA raksturīgākajiem simptomiem – elpas trūkumu, smaguma sajūtu krūškurvī, sēkšanu un klepu.

Salīdzinot eNO koncentrāciju izelpas gaisā alergiskiem pacientiem un pacientiem bez alergijas, mēs konstatējām augstāku NO koncentrāciju izelpas gaisā pacientiem, kas sūdzējās par alergiskām reakcijām, bet atšķirība starp grupām nesasniedza statistisku ticamību (sk. 5. att.).

Izmantojot regresijas analīzi, pētījumā tika pierādīta ticama korelācija starp bronhu provokācijas testa PD20 rādījumu un FeNO koncentrāciju ($r = 0,371$; $p = 0,0132$) (sk. 6. att.)

Diskusija

Daudzos pētījumos ir konstatēts, ka eNO koncentrācija izelpas gaisā pacientiem ar BA ir būtiski palielināta. Salīdzinoši izelpas NO mērījums ir daudz vienkāršāks, lētāks, ātrāks un drošāks nekā bronhu provokācijas tests, bet līdz šim nav viennozīmīgi pierādīts, ka eNO mērījums ir labāks vai līdzvērtīgs bronhu provokācijas testam BA diagnostikā. Berkmans un citi⁴³ atzīst, ka speciālisti ļoti negribīgi novērtē eNO testa labās īpašības salīdzinājumā ar bronhu provokācijas testu BA diagnostikai. Minētā autora pētījumā tiek konstatēts, ka eNO mērījums ir metode, kas var būt pielīdzināma bronhu provokācijas testam. Mūsu pētījumā, lai salīdzinoši izvērtētu BA diagnostikas metožu efektivitāti, līdztekus bronhu provokācijas testam visiem pacientiem tika veikts eNO mērījums. Rezultāti uzrādīja, ka vairāk nekā pusei (53%) pacientu ar paaugstinātu bronhu reaktivitāti bija palielināts arī eNO, kas atspoguļo metodes sensitivitāti, savukārt metodes specifitāte atbilda 63%. Tika konstatēts, ka pacientiem ar paaugstinātu bronhu reaktivitāti eNO rādījums ir statistiski ticami palielināts. Iegūtie rezultāti atbilst literatūrā minētajiem datiem. Daudzos pētījumos ir pierādīts, ka eNO pieaug BA slimniekiem, kuriem nav glikokortikosteroīdo medikamentu terapijas, un ka izelpotā NO līmenis korelē ar elpceļu iekaisuma smaguma pakāpi.^{44, 45} Ir zināms, ka izelpotais NO daudzums pārsvarā pieaug pacientiem, kuru elpceļos ir eozinofīlais iekaisums – tā sauktās alergiskās BA gadījumā, un ka šādas pārmaiņas ir aptuveni 50% gadījumu, ko arī apstiprina mūsu pētījuma rezultāti.

Savukārt 25% pacientu, kam neapstiprinājās BA diagnoze, arī bija palielināta eNO koncentrācija izelpas gaisā. No tā var secināt, ka pastāv zināma datu pārklāšanās starp eNO mērījumu pacientiem ar un bez BA. Tas ir pretrunā domai par eNO izmantošanu BA diagnostikā. Līdzīgus datus min arī citi autori.⁴⁶ Piemēram, Norvēģijā veiktajā pētījumā,⁴⁷ kurā piedalījās vairāk nekā 8000 pieaugušie, bija pacientu grupa ar paaugstinātu eNO, bet normālu bronhu reaktivitāti. Minētie autori uzskata, ka iemesls, kāpēc bronhu hiperreaktivitāte ir daudz raksturīgāks rādītājs pacientiem ar aizdomām par BA nekā palielināts eNO, iespējams, ir tas, ka

eNO atspoguļo īslaicīgu alerģisko reakciju un ir ļoti svārstīgs lielums, bet elpceļu hiperreaktivitāte atspoguļo gan īslaicīgu alerģisko reakciju, gan ilgstošo pārmaiņu procesu elpceļos, kas ietver elpceļu sieniņu pārstrukturēšanos, gan dzīšanu. Nevar pilnībā izslēgt, ka šiem pacientiem ir kāda cita patoloģija, kas izraisa eNO līmeņa pieaugumu, piemēram, alerģija, elpceļu infekcija, bronhektāzes, fibrozējošs alveolīts vai sarkoidoze, kas neizpaužas ar bronhospazmu un ierobežo eNO testa specifiskumu astmas diagnostikā (Kharitonov et. al. AJRCCM 2001). Tajā pašā laikā jāņem vērā, ka no pētījumā iekļautajiem pacientiem, kam bija aizdomas par BA, lielākajai daļai tā bija ļoti vieglā formā un līdz ar to bronhu provokācijas tests varēja izrādīties negatīvs. Iespējams, ka šiem pacientiem BA ir latentā stadijā. Šajā sakarā Duponts (*Dupont*) un citi (Dupont et. al. AJRCCM 1998) iesaka, ka lietderīgi būtu piekopt duālu stratēģiju, izmantojot skrīningam gan augstāko, gan zemāko eNO BA diagnozes robežpunktu. Pacientiem, kam eNO nesasniedz 8 ppb, ir maza iespēja diagnosticēt BA. Turpretim pacientiem, kam eNO pārsniedza 18 ppb, ir ļoti liela iespēja diagnosticēt BA un tādējādi atteikties no bronhu provokācijas testa. Pacientiem, kam NO ir robežās starp 9 un 18 ppb, arī BA diagnozi nevar izslēgt, bet tas norāda uz citu diagnostikas metožu nepieciešamību. Tādā veidā strādājot, būtu iespējams samazināt bronhu provokācijas testu skaitu.

Pirms bronhu provokācijas testa tika veikta arī spirogrāfija, kas ir šajā gadījumā obligāts mērījums. Ja spirogrāfijas rādītāji pacientam ir pazemināti, bronhu provokācija tiek atteikta, jo tā draud ar smagas bronhospazmas paaugstinātu risku. Salīdzinot spirogrāfijas rādītājus – $FEV_1\%$, $FVC\%$ un $FEV_1/FVC\%$ ar bronhu reaktivitāti raksturojošo rādītāju PD_{20} , tika konstatēts, ka pacientiem ar paaugstinātu bronhu reaktivitāti ir statistiski ticami pazemināti $FEV_1\%$ un $FEV_1/FVC\%$. Līdzīgi rezultāti ir iegūti arī citos pētījumos (Langley et. al. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2003). Abu rādītāju pazemināšanās ir raksturīga obstruktīvām plaušu slimībām, bet šajā slimību grupā ietilpst ne tikai BA, bet arī citas slimības. Piemēram, HOPS gadījumā šie rādītāji arī ir būtiski pazemināti un tādējādi nav specifiski astmai. Netika konstatēta statistiski ticama saistība starp paaugstinātu bronhu reaktivitāti un $FVC\%$ rādītāju. Šis rādītājs pārsvarā ir pazemināts restriktīvu plaušu patoloģiju gadījumā, pie kurām astma nepieder.

Veicot korelāciju starp spirometrijas rādītājiem – $FEV_1\%$, $FVC\%$, $FEV_1/FVC\%$ un eNO (ppb) rādītāju, konstatējām, ka, neskatoties uz statistiski ticamu saistību starp eNO un bronhu hiperreaktivitāti, nav korelācijas starp eNO un $FEV_1\%$ un $FVC\%$. Korelācija tika konstatēta tikai starp eNO un $FEV_1/FVC\%$. Pacientiem ar augstāku eNO bija statistiski ticami zemāki $FEV_1/FVC\%$ rādītāji. Līdzīgā – Langlija un citu veiktajā – pētījumā (Langley et. al. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2003) netika konstatēta korelācija starp $FEV_1\%$ un eNO, tāpēc šie autori secina, ka nav korelācijas starp eNO un elpceļu obstrukcijas pakāpi. Tā kā mūsu pētījumā tika izvērtēta arī korelācija starp eNO un $FEV_1/FVC\%$, kas izrādījās pozitīva, tad iespējams, ka šāds secinājums ir pāragrs un pētījumus varētu turpināt arī šajā virzienā.

Klīniskos pētījumos ir atklāta korelācija starp eNO un eozinofilo leukocītu skaitu ierosinātās krēpās, kas liecina, ka alerģiskais iekaisums ir viens no cēloņiem, kas tieši saistīts ar eNO koncentrācijas palielināšanos. Eozinofilo leukocītu palielināts daudzums ierosinātās krēpās ir raksturīgs alerģiskai BA, tāpēc pētījumā salīdzinājām

NO līmeni izelpas gaisā pacientiem ar palielinātu bronhu reaktivitāti, kas aptaujā atzina alerģijas esamību un to noliedza. Kaut gan eNO līmenis bija augstāks pacientiem ar BA, tomēr abās grupās izelptā NO līmenis statistiski ticami neatšķīrās. Tādējādi rezultāti ir pretrunā literatūrā minētajiem datiem (Silvestri et. al. ERJ 1999). Iespējams, tas ir izskaidrojams ar nelielo pacientu kopskaitu. Lai šādas pretrunas novērtētu, būtu jāveic turpmāki izmeklējumi, kuros būtu iekļauti alerģisko reakciju novērtēšanas testi, kā arī ierosināto krēpu ieguve un analīze.

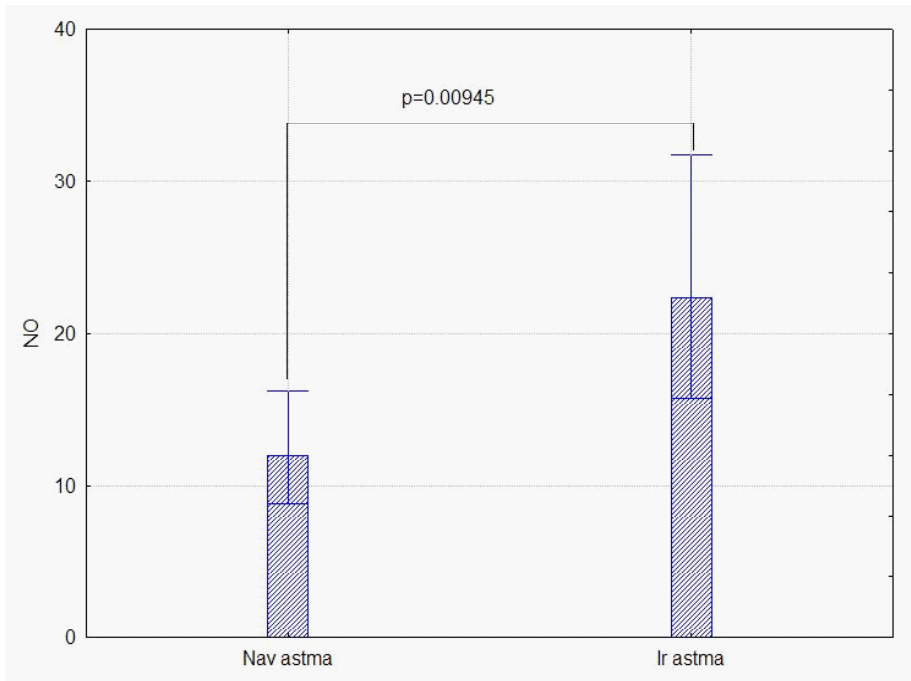
Pacientu aptaujā konstatējām, ka visvairāk sūdzību bija par klepu, elpas trūkumu, spiedīgu jeb smaguma sajūtu krūškurvī un sēcošu elpu. Iegūto rezultātu Spīrmana neparametriskā rangu korelācija uzrādīja, ka pretstatā korelācijai starp eNO un paaugstinātu bronhu hiperreaktivitāti nepastāv korelācija starp eNO un BA raksturīgākajiem simptomiem – elpas trūkumu, smaguma sajūtu krūškurvī, sēkšanu un klepu. Iespējams, ka pacienti intervijas laikā nepietiekami rūpīgi apraksta un izvērtē savus simptomus, kas vēlreiz liecina par objektīvu metožu nepieciešamību BA diagnostikā.

Henriksena un citu (Henriksen et. al. ERJ 2000) veiktajā pētījumā ir konstatēta pozitīva korelācija starp eNO un metaholīna devu, kas izraisa bronhospazmu bronhu provokācijas testa laikā (FEV_1 samazināšanos par 20%). Līdzīgi minētajam pētījumam, arī mēs ieguvām pozitīvu korelāciju starp izelpas NO un PD_{20} .

Iegūtie rezultāti parāda, ka, neraugoties uz korelāciju starp eNO un PD_{20} , nav iespējams atteikties no bronhu provokācijas testa un pāriet tikai uz izelptā NO mērījumiem. Tomēr var secināt, ka eNO mērījums kombinācijā ar bronhu hiperreaktivitātes novērtējumu ir ļoti specifisks kritērijs tieši alerģiskajai BA. Pateicoties tam, ka eNO ir neinvazīvs un vienkāršs mērījums, tas var tikt izmantots kā papildu izmeklējums BA diagnostikā.

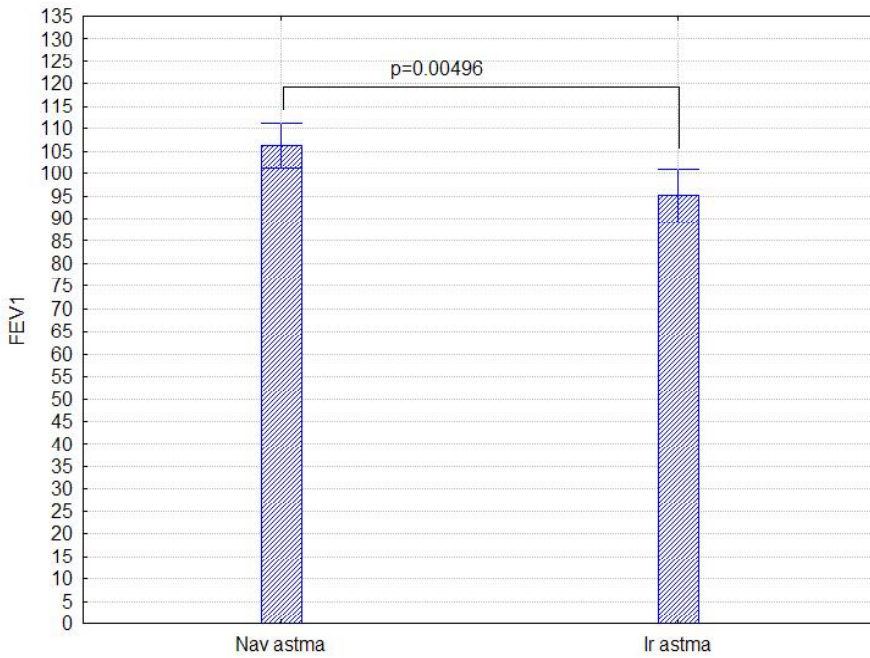
Secinājumi

1. Pastāv tieša korelācija starp bronhu reaktivitāti (metaholīna PD_{20}) un eNO izelpas gaisā.
2. Tā kā eNO noteikšanas metodes sensitivitāte astmas diagnostikai atbilda 53% un metodes specifiskums – 63%, tad ar minēto metodi nevar aizstāt metaholīna bronhoprovokācijas testu, bet tā var tikt lietota kā papildu kritērijs bronhiālās astmas diagnozes apstiprināšanai.
3. Pastāv statistiski ticama korelācija starp eNO un Tifno indeksu ($FEV_1/FVC\%$, $p = 0,0453$), kas raksturo elpceļu caurlaidības pārmaiņas.
4. Nav konstatēta tieša saistība starp eNO līmeni izelpas gaisā un elpceļu alerģisko reaktivitāti.
5. Nav konstatēta korelācija starp NO koncentrāciju izelpas gaisā un BA raksturīgiem simptomiem – elpas trūkumu, smaguma sajūtu krūškurvī, sēkšanu un klepu.



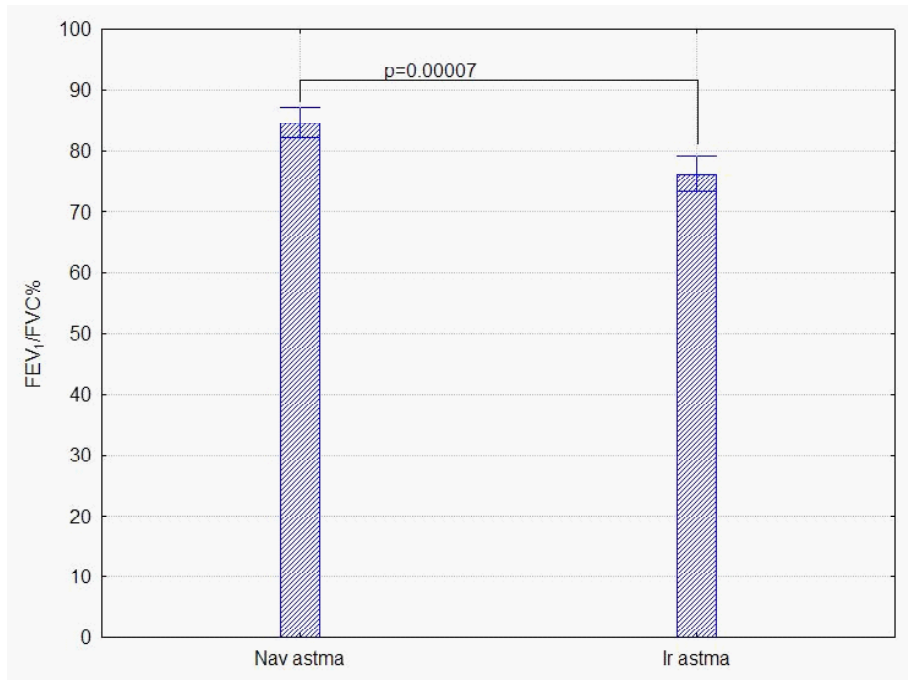
1. attēls. Izēlotā NO līmenis (ppb) pacientiem ar un bez bronhiālās astmas (ANOVA dispersijas analīze).

Fig. 1. eNO level (ppb) in patients with and without bronchial asthma (ANOVA dispersion analysis)



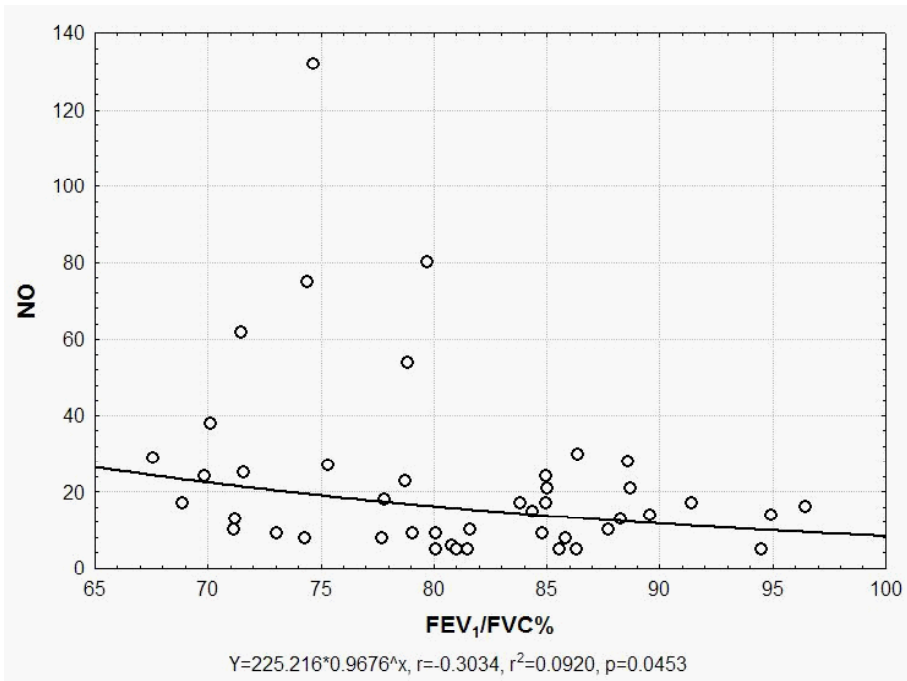
2. attēls. FEV₁ rādītāji pirms bronhu provokācijas testa (procentos) pacientiem ar un bez bronhiālās astmas (nelineārā ANOVA dispersijas analīze).

Fig. 2. FEV₁ levels (percentage of predicted) before the bronchial challenge test in patients with and without bronchial asthma (non-linear ANOVA dispersion analysis)



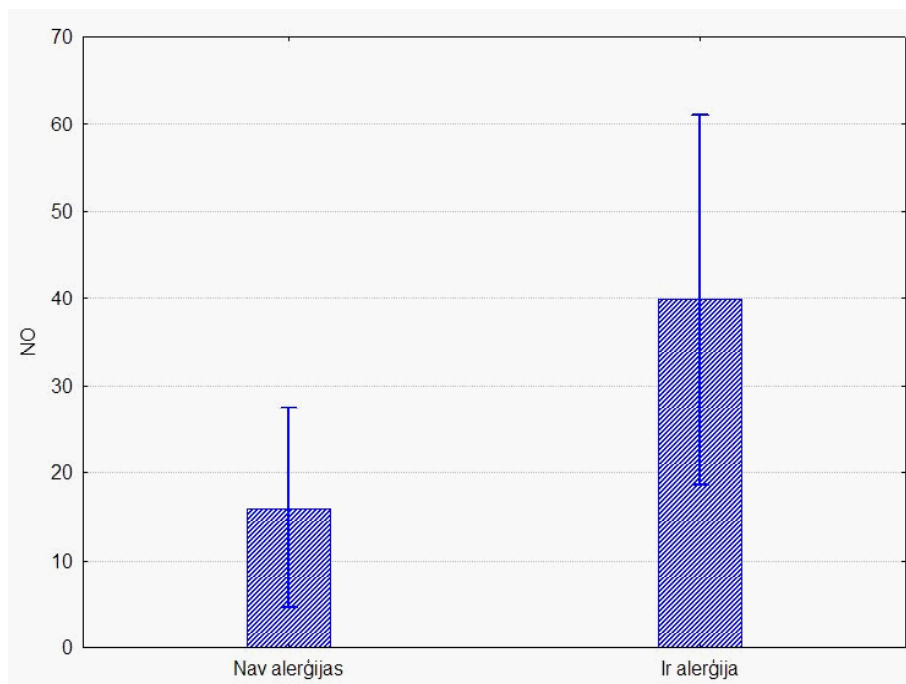
3. attēls. FEV₁/FVC rādītāji pirms bronhu provokācijas testa (procentos) pacientiem ar un bez BA (nelineārā ANOVA dispersijas analīze).

Fig. 3. FEV₁/FVC levels (percentage) before the bronchial challenge tests in patients with and without BA (non-linear ANOVA dispersion analysis)



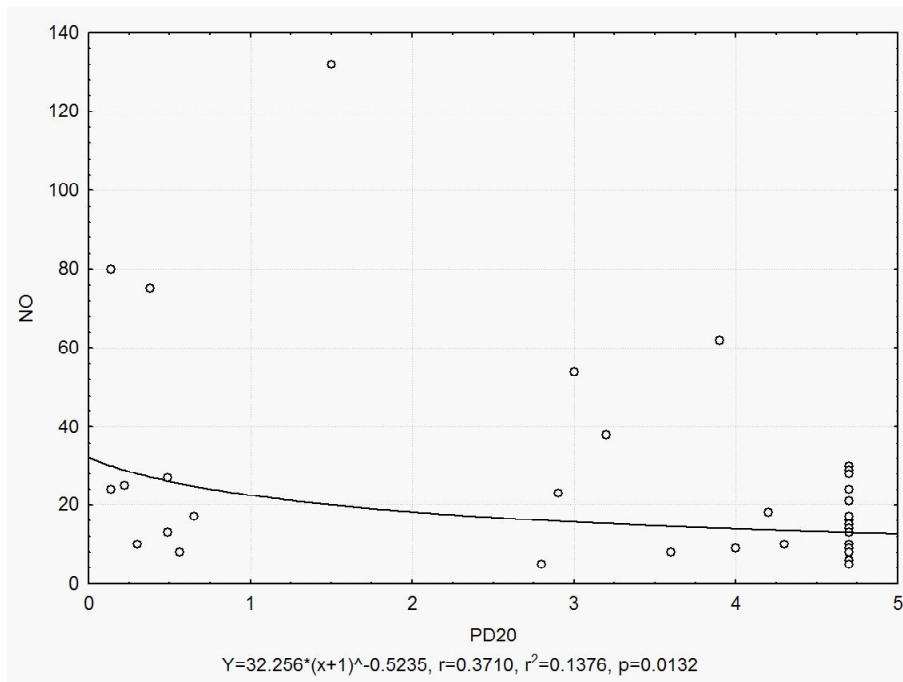
4. attēls. Pakāpes regresijas vienādojums starp eNO (ppb) atkarībā no FEV₁/FVC%. Tā kā dati neatbilda normālam sadalījumam, tika veikta PD20 un FEV₁/FVC% logaritmiska transformācija un regresijas analīze. Iznākumā tika iegūta pakāpes regresijas funkcija (r = korelācijas koeficients).

Fig. 4. Power regression equation between eNO (ppb) depending on FEV₁/FVC%. Because the data did not meet the criteria of normal distribution, a logarithmic transformation and regression analysis of PD20 un FEV₁/FVC% were applied. As a result, we arrived at power regression function (r = correlation coefficient).



5. attēls. Izelpotā NO līmenis pacientiem bez alerģijas (1) un ar alerģiju (2). Nav ticamu atšķirību (nelineārā ANOVA dispersijas analīze).

Fig. 5 . The level of exhaled NO in allergic (1) and non-allergic (2) patients. There are no reliable differences (non-linear ANOVA dispersion analysis).



6. attēls. Pakāpes regresijas vienādojums starp eNO (ppb) atkarībā no PD20 (mg/ml).

Tā kā dati neatbilda normālam sadalījumam, tika veikta PD20 un NO logaritmiska transformācija un regresijas analīze. Iznākumā tika iegūta pakāpes regresijas funkcija (r = korelācijas koeficients).

Fig. 6. Power regression equation between eNO (ppb) depending on PD20 (mg/ml).

Because the data did not meet the criteria of normal distribution, a logarithmic transformation and regression analysis of PD20 and FEV₁/FVC% were applied. As a result, we arrived at power regression function (r = correlation coefficient).

Literatūra

- Masoli, M., Fabian, D., Holt, S., Beasley, R. The Global Burden of Asthma: Executive Summary of the GINA Dissemination Committee Report. *Allergy*. 2004; 59(5): 469–78.
- Beasley, R. The Global Burden of Asthma Report, Global Initiative for Asthma (GINA). Available at: <http://www.ginasthma.org>, 2004.
- GINA, Global strategy for asthma management and prevention, 2006.
- Djukanovic, R., Roche, W. R., Wilson, J. W., et al. Mucosal inflammation in asthma. *American Review of Respiratory Disease*. 1990; 142: 434–457.
- Barnes P. J. Pathophysiology of asthma. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1996; 42: 3–10.
- Goldstein, M. F., Veza, B. A., Dunskey, E. H., et al. Comparisons of peak diurnal expiratory flow variation, postbronchodilator FEV₁ responses, and methacholine inhalation challenges in the evaluation of suspected asthma. *Chest*. 2001; 119: 1001–1010.
- American Thoracic Society. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing – 1999. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2000; 161: 309–329.

8. Hunter, C. J., Brightling C. E., Woltmann G., Wardlaw J. A., Pavord I. D. A Comparison of the Validity of Different diagnostic Tests in Adults with Asthma. *Chest*. 2002; 121; 1051–1057.
9. Woolcock, A. J., Anderson, S. D., Peat, J. K., et al. Characteristics of bronchial hyperresponsiveness in chronic obstructive pulmonary disease and in asthma. *American Review of Respiratory Disease*. 1991; 143: 1438–1443.
10. Hunter, C. J., Brightling, C. E., Woltmann, G., Wardlaw, J. A., Pavord, I. D. A Comparison of the Validity of different diagnostic tests in adults with asthma. *Chest*. 2002; 121; 1051–1057.
11. Hamid, Q., Springall, D. R., Riveros-Moreno, V., Chanez, P., Howarth, P. H., Redington, A., Bousquet, J., Godard, P., Holgate, S., Polak, J. M. Induction of nitric oxide synthase in asthma. *Lancet*. 1993; 342: 1510–1513.
12. Guo, F. H., Comhair, S. A., Zheng, S., Dweik, R. A., Eissa, N. T., Thomassen, M. J., Calhoun, W., Erzurum, S. C. Molecular mechanisms of increased nitric oxide (NO) in asthma: evidence for transcriptional and post-translational regulation of NO synthesis. *The Journal of Immunology*. 2000; 164: 5970–5980.
13. Shaul, P. W., North, A. J., Wu, L. C., Wells, L. B., Brannon, T. S., Lau, K. S., Michel, T., Margraf, L. R., Star, R. A. Endothelial nitric oxide synthase is expressed in cultured human bronchiolar epithelium. *The Journal of Clinical Investigation*. 1994; 94: 2231–2236.
14. Bernareggi, M., Mitchell, J. A., Barnes, P. J., Belvisi, M. G. Dual action of nitric oxide on airway plasma leakage. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1997; 155: 869–74.
15. Kung, T. T., Chapman, R. W., Egan, R. W. et al. Nitric oxide synthase inhibitors reduce pulmonary eosinophilia in allergic mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1996; 153: A 797.
16. Kharitonov, S., Alving, K., Barnes, P. J. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. ERS Task Force Report. *European Respiratory Journal*. 1997; 10: 1683–1693.
17. Kharitonov, S. A., Barnes, P. J. Exhaled markers of pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001; 163: 1693–1722.
18. Kharitonov, S. A., Yates, D., Robbins, R. A. et al. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet*. 1994; 343: 133–135.
19. Kharitonov, S. A., Robbins, R. A., Yates, D. et al. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1995; 152: 609–612.
20. Dotsch, J., Demirakca, S., Terbrack, H. G. et al. Airway nitric oxide in asthmatic children and patients with cystic fibrosis. *European Respiratory Journal*. 1996; 9: 2537–2540.
21. Ho, L. P., Innes, J. A., Greening, A. P. Exhaled nitric oxide is not elevated in the inflammatory airways diseases of cystic fibrosis and bronchiectasis. *European Respiratory Journal*. 1998; 12: 1290–1294.
22. Bel, E. H. Clinical phenotypes of asthma. *Curr. Opin. Pulm. Med*. 2004;10: 44–50.
23. Smith, A. D., Cowan, J. O., Brassett, K. P., Filsell, S., McLachlan, C., Monti-Sheehan, G., Herbison, G. P., Taylor, D. R. Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2005; 172: 453–459.
24. Ho, L. P., Wood, F. T., Robson, A., Innes, J. A., Greening, A. P. Atopy influences exhaled nitric oxide levels in adult asthmatics. *Chest*. 2000; 118: 1327–1331.

25. Silvestri, M., Spallarossa, D., Yourukova, V. F., Battistini, E., Fregonese, B., Rossi, G. A. Orally exhaled nitric oxide levels are related to the degree of blood eosinophilia in atopic children with mild-intermittent asthma. *European Respiratory Journal*. 1999; 13: 321–326.
26. Salome, C. M., Roberts, A. M., Brown, N. J., Derman, J., Marks, G. B., Woolcock, A. J. Exhaled nitric oxide measurements in a population sample of young adults. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1999; 159: 911–916.
27. Kharitonov, S. A., Yates, D. H., Barnes, P. J. Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1996; 153: 454–457.
28. Kharitonov, S. A., Barnes, P. J., O'Connor, B. J. Reduction in exhaled nitric oxide after a single dose of nebulized budesonide in patients with asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1996; 153: A 799.
29. Kharitonov, S. A., Donnelly, L. E., Corradi, M., Montuschi, P., Barnes, P. J. Dose-dependent onset and duration of action of 100/400 mcg budesonide on exhaled nitric oxide and related changes in other potential markers of airway inflammation in mild asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2000; 161: A186.
30. Chatkin, J. M., Ansarin, K., Silkoff, P. E., McClean, P., Gutierrez, C., Zamel, N., Chapman, R. Exhaled nitric oxide as a noninvasive assessment of chronic cough. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1999; Vol 159, 1810–1813.
31. Dupont, L. J., Rochette, F., Demedts, M. G. et al. Exhaled nitric oxide correlates with airway hyperresponsiveness in steroidnaive patients with mild asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1998; 157: 894–898
32. Deykin, A., Massaro, A. F., Drazen, J. M. et al. Exhaled nitric oxide as a diagnostic test for asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2003; 165: 1597–1601.
33. Smith, A. D., Cowan, J. O., Filsell, S., McLachlan, C., Monti-Sheehan, G., Jackson, P., Taylor, D. R. Diagnosing asthma – comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2004; 169: 473–478.
34. Jatakanon, A., Lim, S., Kharitonov, S. A. et al. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax*. 1998; 53: 91–95.
35. Langley, S. J., Goldthorpe, S., Custovic, A., Woodcock, A. Relationship among pulmonary function, bronchial reactivity, and exhaled nitric oxide in a large group of asthmatic patients. *Ann. Allergy Asthma Immunol*. 2003 Oct. 91(4): 398–404.
36. Hacken, N. H. T., Meijer, R. J., Kerstjens, H. A. M., van der Mark, T. W., Postma, D. S. Expired nitric oxide in stable asthmatic patients does not relate to parameters of disease severity. *European Respiratory Journal*. 1997; 9: 416 S.
37. Taylor, D. A., Lim, S., Barnes, P. J., O'Connor, B. J. Expired nitric oxide production and increased airway responsiveness in asthma reflect different inflammatory pathways. *European Respiratory Journal*. 1997; 9: 416 S.
38. <http://www.aerocrine.com/index/Html>
39. Kharitonov, S., Alving, K., Barnes, P. J. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. ERS Task Force Report. *European Respiratory Journal*. 1997; 10: 1683–1693.

40. Kharitonov, S. A., Barnes, P. J. Clinical aspects of exhaled nitric oxide. *European Respiratory Journal*. 2000; 16: 781–792.
41. Sterk, P. J., Fabbri, L. M., Quanjer, Ph. H., Cockcroft, D. W., O’Byrne, P. M., Anderson, S. D., Juniper, E. F., Malo, J. L. Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. Official statement of the European Respiratory Society. *European Respiratory Journal*. 1993; 6, Suppl. 16, 53–83.
42. Taivans, I., Jurka, N., Strazda, G., Brezinskis, G. A simple method of broncho-provocation using a valved holding chamber. *Journal of Aerosol Medicine*. V. 17, No. 3, 2004; 270–277.
43. Berkman, N., Avital, A., Breuer, R., Bardach, E., Springer, C. and Godfrey, S. Exhaled nitric oxide in the diagnosis of asthma: comparison with bronchial provocation tests. *Thorax*. 2005; 60; 383–388.
44. Al-Ali, M. K., Eames, C., Howarth, P. H. Exhaled nitric oxide: relationship to clinico-physiological markers of asthma severity. *Respiratory Medicine*. 1998; 92: 908–913.
45. Lim, S., Jatakanon, A., Meah, S. et al. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in mild to moderately severe asthma. *Thorax*. 2000; 55: 184–188.
46. Hedenstierna, G., Högman, M. Can exhaled NO be used as a marker of airway inflammation? *European Respiratory Journal*. 1998; 12: 1248–1249.
47. Henriksen, A. H., Lingaas-Holmen, T., Sue-Chu, M., Bjermer, L. Combined use of exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness in characterizing asthma in a large population survey. *European Respiratory Journal*. 2000; 15: 849–855.

Summary

The aim of the study was to evaluate the usefulness of measurements of nitric oxide (NO) in exhaled air, in comparison with other non-invasive methods, in the diagnosis of early bronchial asthma (BA). 44 adults took part in the study, and were assigned the measurement of airway hyperresponsiveness (AHR) to methacholine. A significant correlation between the BPT PD₂₀ levels and the concentration of the eNO was found, $r = 0.37$, $p = 0.0132$. The sensitivity of the eNO method for asthma diagnosis was 53%, but the specificity – 63%. Comparing eNO levels with the spirometry indices, a statistically significant correlation between eNO and $EV_1/FVC\%$ was found ($p = 0.0453$) that revealed that there exists a link between eNO and the degree of airway obstruction. We concluded that NO measurement in exhaled air can be used as a complementary parameter in BA diagnosis.

Keywords: exhaled nitric oxide (eNO), bronchial hyperresponsiveness, asthma, diagnostics.

Ierasto *Helicobacter pylori* testu izvērtēšana pacientiem ar vai bez kuņģa gļotādas atrofijas

Evaluation of Routine Helicobacter pylori Tests in Patients with and without Gastric Mucosal Atrophy

Agnese Sudraba,^{1,5} Konrāds Funka,¹ Larss Engstrands
(*Lars Engstrand*),² Dainus Jančausks (*Dainius Jančiauskas*),³
Laims Jonaitis (*Laimas Jonaitis*),³ Lims Kupčinskis
(*Limas Kupčinskis*),³ Jaw-Town Lin,⁴ Dace Rudzīte,^{1,5} Mārcis Leja^{1,5,6}
Baltijas–Taivānas atrofiskā gastrīta pētnieku grupas vārdā*

¹ Latvijas Universitāte Medicīnas fakultāte, Raiņa bulvāris 19, Rīga, LV-1001
E-pasts: dr.sudraba@latnet.lv

² Zviedrijas Infekcijas slimību kontroles institūts, Zviedrija

³ Kauņas Medicīnas Universitāte, Lietuva

⁴ Taivānas Nacionālā Universitātes slimnīca, Taivāna

⁵ SIA “Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīca”, Hipokrāta iela 4, Rīga, LV-1079

⁶ Gremošanas slimību centrs “GASTRO”, Linezera iela 6, Rīga, LV-1006

Helicobacter pylori (*Hp*) ir galvenais hroniska gastrīta izraisītājs. Hronisks kuņģa gļotādas iekaisums visbiežāk rodas mūža garumā, un tas var pakāpeniski progresēt un kļūt par kuņģa gļotādas atrofiju (ar intestinālu metaplāziju). Sākotnējā iekaisuma rašanās, iespējams, ir multifaktoriāla, ko ietekmē gan *Hp* infekcija, gan ģenētiski un apkārtējās vides faktori (1). Pētījuma mērķis bija izvērtēt ikdienā lietoto *Hp* testu precizitāti pacientiem ar vai bez kuņģa gļotādas atrofijas.

Prospektīva pētījuma gaitā tika salīdzināti pieci *Hp* diagnostiskie testi Latvijas pacientu grupā. Izpētē tika iekļauti pacienti, kas vecāki par 55 gadiem un kam dispeptisku sūdzību dēļ tika indicēta augšējā endoskopija. Atrofija tika noteikta histoloģiski, savukārt *Hp* tika diagnosticēta ar piecu testu palīdzību: ātro ureāzes testu, ¹³C ureāzes elptestu, histoloģiski, ar *Hp* IgG/IgA antivielu testu un veicot mikrobioloģisko *Hp* noteikšanu.

Pētījuma rezultāti parādīja, ka pacientiem ar atrofiju, salīdzinot ar pacientu grupu bez atrofijas, diagnostisko testu precizitāte nedaudz atšķīrās. Gan atrofijas, gan neatrofijas pacientu grupā ar augstāko precizitāti bija mikrobioloģiskā diagnostikas metode, bet kā visneprecīzākā metode izrādījās ātrais ureāzes tests. Salīdzinot histoloģiju, seroloģiju un ¹³C ureāzes elptestu kā diagnostiskās *Hp* metodes, dati abās grupās tomēr nedaudz atšķīrās.

Pētījuma rezultāti atspoguļo ikdienā izmantojamo testu nozīmi *Hp* infekcijas diagnostikā pacientiem ar vai bez atrofijas.

Atslēgvārdi: atrofija, *Helicobacter pylori* (*Hp*), intestinālā metaplāzija.

Ievads

Helicobacter pylori ir spirālveida, gramnegatīva baktērija, kas kuņģa gļotādā sastopama vairāk nekā pusei pasaules iedzīvotāju un kam ir galvenā loma vairumā gastroduodenālo slimību attīstībā. Kuņģa gļotādas kolonizācija ar *Hp* ir hroniska gastrīta attīstības cēlonis visiem inficētiem pacientiem, taču tikai daļai šo hroniskā gastrīta pacientu tas progresē.

Saslimšanas klīniskais iznākums ir atkarīgs no vairākiem faktoriem, tostarp no *Hp* genotipa, saimnieka iedzimtās fizioloģijas, ģenētiskās predispozīcijas un apkārtējās vides faktoriem. *Hp* eradikācija kā kuņģa vēža profilakse apspriesta preklīniskos zinātniskos un klīniskos pētījumos, kas pierāda pat pirmsvēža stāvokļa (atrofisks gastrīts un intestināla metaplāzija) atgriezeniskumu (2).

Hp infekcijas ir sastopamas bieži, un tas liecina, ka infekcija ir nepietiekami izvērtēta atrofiska gastrīta un intestinālās metaplāzijas gadījumā, īpaši, ja tiek pielietotas tikai uz kuņģa biopsijām balstītas diagnostiskas metodes. Bieža medikamentu lietošana un biežāk sastopamā vidēji smaga vai smaga kuņģa gļotādas atrofija gados vecākiem pacientiem tiek minēta kā šķērslis *Hp* diagnostisko testu pielietojumā: kļūdaini negatīvus ātros ureāzes testus un histoloģijas rezultātus var iegūt gadījumos, kad *Hp* uzņēmumā iegūst niecīgu koloniju skaitu atrofijas dēļ vai arī pacients ir lietojis nesteroidos pretšāpju-pretiekaisuma līdzekļus (6). Tāpēc ikdienā pielietojamo *Hp* testu rezultāti var būt atšķirīgi atrofijas un neatrofijas pacientu grupās.

Mērķis

Pētījuma mērķis bija izvērtēt ikdienā lietotos *Hp* diagnostiskos testus un salīdzināt tos pacientu grupām ar vai bez kuņģa gļotādas atrofijas.

Materiāls un metodes

Pētījumā tika iesaistīti 126 dispeptiski pacienti, kuriem tika veikti kopumā pieci *Hp* diagnostiskie testi. Šie pacienti bija vecāki par 55 gadiem, ar augšējās gremošanas sistēmas sūdzībām vai arī cilvēki, kas tika nosūtīti uz augšējās endoskopijas veikšanu. Pētījumā netika iekļauti pacienti ar kuņģa čūlu (akūtu vai kuņģa čūlas slimību anamnēzē), iepriekš veiktu augšējās gastrointestinālas sistēmas ķirurģiju, diagnosticētu kuņģa audzēju (pacientam vai pacienta pirmās pakāpes radniekiem), kā arī pacienti ar iepriekš veiktu *Hp* eradikāciju. Cilvēki, kuri jebkādu iemeslu dēļ pēdējā mēneša laikā bija saņēmuši antibiotikas un/vai protonu sūkņa inhibitorus, pētījumā netika iekļauti.

Visiem pētījumā iesaistītajiem pacientiem tika veikti: ātrais ureāzes tests, histoloģija, ¹³C ureāzes elptests, kombinētais *Hp* IgG/IgA antivielu tests (seroloģija) un mikrobioloģiskā izmeklēšana (uzsējums).

Katram pacientam tika veikta augšējā endoskopija, kuras laikā tika paņemtas kopumā deviņas biopsijas – pieci kuņģa gļotādas paraugi atbilstīgi Pēdējai Sidnejas klasifikācijai (3), divi kuņģa gļotādas paraugi tika paņemti ātrajam ureāzes testam un divi paraugi – no kuņģa antrālās un korpusa daļas – uzsējumam.

Ātrie ureāzes testi – *Hp* infekcijas noteikšana kuņģī pamatojas ar ureāzes (*Hp* izdala fermentu – ureāzi, kas sašķeļ urīnu amonijā (NH_4^+)) aktivitātes noteikšanu biopsijas paraugā. Biopsijas paraugs tiek analizēts uzreiz pēc tā iegūšanas. Krāsas maiņa 30 minūtēs no brīža, kad testa gēlā ievietoti kuņģa gļotādas paraugi, norāda, vai šajā paraugā ir vai nav ureāze, t. i., izveidojies amonijs (NH_4^+), kas tiek noteikts ar indikatora krāsu testa gēlā. Visiem pētījuma pacientiem tika izmantots Somijas laboratorijas *Biohit* ātrais ureāzes tests (*Helicobacter pylori* Quick Test, *Biohit*, Finland).

^{13}C ureāzes elptesti pamatojas uz *Hp* producētās ureāzes spēju sadalīt ar ^{13}C iezīmētu urea substrātu (75 mg šā substrāta izšķīdinot 200 ml apelsīnu sulas un izdzerot), atbrīvojot iezīmētu oglekškābo gāzi ($^{13}\text{CO}_2$), ko ar analizatora IRIS (Vācija) palīdzību izmēra izelpā.

Mērījuma kritēriji: $\text{DOB} < 2,5$ – negatīvs rezultāts, > 4 – pozitīvs rezultāts.

***Hp* IgG /IgA** antivielas pacienta serumā tika noteiktas ar ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, t. i., ar enzīmiem saistītā imunosorbenta pārbaude) metodi. Rezultātu interpretācija: ≥ 30 SV tika uzskatīts par pozitīvu rezultātu, ≤ 30 SV norādīja, ka *Hp* antivielas netika konstatētas.

Mikrobioloģiskā analīze tika veikta Zviedrijas Infekcijas slimību kontroles institūtā Stokholmā. Primārai kultūras ieguvei katra biopsija tika homogenizēta, 100 μl iegūtā homogenizāta uzsēti uz selektīvas barotnes (7% asins barotnes, kas papildināta ar Skirova piedevu (*Skirrow's supplement: Vancomycin 5 mg, Polymyxin 1,250 IU, Trimetoprim 2,5 mg*) un septiņas dienas audzēti 35 °C mikroaerofilā atmosfērā. *Hp* identifikācija tika veikta, pamatojoties uz testiem, kas nosaka ureāzes, katalāzes un oksidāzes esamību, un koloniju krāsojumā ar Grama metodi (*Gram's method*) un tajā iegūtā morfoloģiskā raksturojuma.

Histoloģijas rezultāti tika pieņemti par pozitīviem, ja tika atrasta *Hp* ar Ģimsa krāsu (*Giemsa stain*) krāsotos preparātos no kuņģa antrālās vai korpusa daļas. Histoloģijas materiālu izvērtēja divi neatkarīgi patologi, sniedzot savu slēdzienu.

Hp atradne tika uzskatīta par pozitīvu, ja kāds no turpmāk minētajiem diviem rezultātiem bija pozitīvs:

- pozitīvais saskaņotais 1. rezultāts: par pozitīvu šis rezultāts tika pieņemts, ja mikrobioloģiskais uzņēmums un vēl viens no pieciem *Hp* diagnostiskiem testiem bija pozitīvs;
- pozitīvais saskaņotais 2. rezultāts: par pozitīvu šis rezultāts tika pieņemts, ja četri no pieciem veiktajiem *Hp* diagnostiskiem testiem bija pozitīvi.

Atrofijas pacientu grupa tika atlasīta pēc histoloģijas, diagnosticējot atrofiju kuņģa antrālā vai korpusa daļā. Atrofija tika iedalīta trīs pakāpēs: 1. pakāpe – viegla atrofija, 2. pakāpe – vidēji smaga atrofija, 3. pakāpe – smaga atrofija.

Rezultāti

Pētījumā tika iekļauti 126 pacienti, no kuriem 30 (23,8%) bija vīrieši, 96 (76,2%) – sievietes. Pacientu vidējais vecums – 67,4 gadi. 33 (26,2%) pacientiem bija diagnosticēta kuņģa gļotādas atrofija, no kuriem 21 tika konstatēta kuņģa korpusa

daļas atrofija, kuņģa antrālās daļas atrofija – 5 pacientiem, savukārt panatrofija – 7 pacientiem.

Salīdzinot inficētību ar *Hp* pacientu grupā ar atrofiju un pacientu grupā bez atrofijas, var redzēt, ka atrofijas pacientu grupā saslimstība ar *Hp* ir 76% pacientu (1. attēls), kas ir krietni lielāka par neatrofijas pacientu grupu, kur inficēti ir 58% pacientu (2. attēls).



1. attēls. Inficētība ar *Hp* atrofijas pacientu grupā

Figure 1. Incidence of *Hp* infection in the atrophic group



2. attēls. Inficētība ar *Hp* neatrofijas pacientu grupā

Figure 2. Incidence of *Hp* infection in the non-atrophic group

Izvērtējot katru *Hp* diagnostisko testu pacientu grupai ar vai bez atrofijas, rezultāti bija šādi:

- ātrajam ureāzes testam atrofijas pacientu grupā kopējā precizitāte bija tikai 70%, kā nākamais – seroloģijas tests, histoloģija un ¹³C ureāzes elptests, un visnotaļ augstāko kopējo precizitāti šajā pacientu grupā sniedza mikrobioloģiskais *Hp* diagnostiskais tests (1. tabula);

1. tabula

Hp diagnostisko testu raksturojums atrofijas pacientu grupai

Description of *Hp* diagnostic tests in the atrophic group

	Jūtība*	Specifiskums*	Pozitīvā sagaidāmā vērtība*	Negatīvā sagaidāmā vērtība*	Kopējā precizitāte*
Ātrais ureāzes tests	76%	50%	83%	40%	70%
Histoloģija	88%	100%	100%	72%	91%
Ureāzes elptests	92%	100%	100%	80%	94%
Seroloģija	96%	50%	86%	80%	85%
Uzsējums	100%	89%	96%	100%	97%

* $p < 0,001$

- izvērtējot neatrofijas pacientu datus, konstatējām, ka ar viszemāko kopējo precizitāti ierindojas ātrais ureāzes tests 85% un seroloģija 86%. Pēc šiem testiem nākamais ir ¹³C ureāzes elptests 98%, histoloģija ar 99% precizitāti,

savukārt mikrobioloģiskais *Hp* diagnostiskais tests sasniedz augstāko precizitāti – 100% (2. tabula).

2. tabula

***Hp* diagnostisko testu raksturojums neatrofijas pacientu grupai**

Description of Hp diagnostic tests in the non-atrophic group

	Juītība*	Specifiskums*	Pozitīvā sagaidāmā vērtība*	Negatīvā sagaidāmā vērtība*	Kopējā precizitāte*
Ātrais ureāzes tests	82%	90%	92%	78%	85%
Histoloģija	98%	100%	100%	98%	99%
Ureāzes elptests	96%	100%	100%	95%	98%
Seroloģija	96%	72%	83%	93%	86%
Uzsējums	100%	100%	100%	100%	100%

* $p < 0,001$

Pētījuma laikā konstatēti

Hp pozitīvi pacienti atrofijas grupā:

ar pozitīvo saskaņoto 1. rezultātu – 24 pacienti,

ar pozitīvo saskaņoto 2. rezultātu – 24 pacienti;

Hp pozitīvi pacienti neatrofijas grupā:

ar pozitīvo saskaņoto 1. rezultātu – 54 pacienti,

ar pozitīvo saskaņoto 2. rezultātu – 52 pacienti.

Tika analizēta *Hp* sastopamība detalizēti katrā kuņģa antrālās un korpusa daļas atrofijas pakāpē (3. un 4. tabula).

3. tabula

***Hp* sastopamība pacientiem ar kuņģa korpusa daļas atrofiju**

Incidence of Hp in patients with gastric corpus atrophy

Kuņģa korpusa daļas atrofijas pakāpe	<i>Hp</i> pozitīvi pacienti	<i>Hp</i> negatīvi pacienti
3. pakāpe	6	4
2. pakāpe	2	0
1. pakāpe	13	3

4. tabula

***Hp* sastopamība pacientiem ar kuņģa antrālās daļas atrofiju**

Incidence of Hp in patients with antral gastric atrophy

Kuņģa antrālās daļas atrofijas pakāpe	<i>Hp</i> pozitīvi pacienti	<i>Hp</i> negatīvi pacienti
3. pakāpe	3	0
2. pakāpe	3	2
1. pakāpe	2	0

Diskusija

Hp infekciju iespējams diagnosticēt ar invazīvās tehnikas endoskopijas un biopsiju palīdzību (histoloģiska izmeklēšana, mikrobioloģiski uzsējot, polimerāzes ķēdes reakcija, ātrais ureāzes tests) un ar neinvazīvu tehniku (seroloģija, ureāzes elptests, urīnā vai asinīs, antigēna tests fēcēs). Šobrīd nav viena konkrēta testa, uz kuru pilnībā var paļauties, lai diagnosticētu *Hp*. Ja nepieciešams, tiek rekomendēta divu testu kombinācija. Kāda konkrēta testa izvēle ir atkarīga no vairākiem faktoriem – klīniskiem apstākļiem, pozitīvo un negatīvo testu iespējamās attiecības, testa stratēģijas rentabilitātes un testu pieejamības (3).

Salīdzinot un izanalizējot šā pētījuma rezultātus ar citu pētījumu rezultātiem, jāsecina, ka visaugstāko jutību, specifiskumu un precizitāti *Hp* infekciju diagnostikā uzrāda mikrobioloģiskā metode (6).

Mikrobioloģiskais uzsējums ir galvenā *Hp* diagnostikas metode. Neraugoties uz apkārtējās vides graujošo ietekmi, lēno augšanu, transportēšanas un uzsējuma procedūras nozīmi, šī metode pacientu grupās ar un bez atrofijas sasniedza visnotaļ augstāko jutību (100%, 100%) un kopējo precizitāti (97%, 100%). Savukārt viszemākā jutība (76%, 82%) un kopējā precizitāte (70%, 85%) abās pacientu grupās tika novērota ātrajam ureāzes testam. Turklāt ir redzamas šā testa kopējās precizitātes atšķirības pacientu grupās ar un bez atrofijas (70%, 85%) (4).

Taču mikrobioloģiskā uzsējuma metode pašlaik nav rekomendēta kā rutīnas *Hp* diagnostiskais tests, bet tas kļūst par svarīgu testu populācijā ar augstu medikamentu (antibiotiku) rezistenci (5).

Seroloģiskā *Hp* testēšana tiek rekomendēta kā sākotnējā – pirms endoskopijas vai pirms ārstēšanas skrīninga testu dispeptiskiem pacientiem. Seroloģija nekādā ziņā nav ieteicama, lai noteiktu *Hp* infekciju pēc baktērijas izskaušanas terapijas (5).

¹³C ureāzes elptests ir vislabāk piemērotākais tests, lai apstiprinātu eradikācijas terapijas efektivitāti agrīni – sešu mēnešu periodā seroloģiskais tests uzrāda aktīvas infekcijas viltus pozitīvu rezultātu (5).

Secinājumi

Salīdzinot ikdienā lietojamos *Hp* diagnostiskos testus, var secināt, ka visaugstāko precizitāti gan atrofijas, gan neatrofijas pacientu grupā uzrāda mikrobioloģiskais uzsējuma diagnostiskais tests. Kā nākamo var minēt histoloģiju un ¹³C ureāzes elptestu, kā arī seroloģiju. Savukārt visneprecīzākais diagnostikas tests abās pacientu grupās izrādījās ātrais ureāzes tests.

Pateicība

Pētījumu līdzfinansējusi Taivānas valsts izpētes padome, Latvijas un Lietuvas Izglītības ministrija un Zinātnes ministrija. Tas tapis ar 8. Valsts Pētījumu programmas un sociālo fondu, kā arī Eiropas Struktūrfonda atbalstu. Pateicamies *Abbott Pharmaceuticals*, *Astra Zeneca Pharmaceuticals*, *Innothera Baltics* un *KingMark* zinātniskai sabiedrībai par atbalstu, pilnībā finansējot pētījuma eradikācijas medikamentus.

*Baltijas–Taivānas atrofiskā gastrīta pētnieku grupa

Par ieguldīto darbu pētījuma veikšanā mēs īpaši pateicamies Viesturam Bokam, Gaļinai Čui, Ilvai Daugulei, Viesturam Krūmiņam, Aijai Linē, Viesturam Putniņam, Armandam Sīviņam, Danam Stirnam, Ivaram Tolmanim, Aigaram Vanagam, Uldim Vikmanim un Ģediminam Kudelim (*Gediminas Kiudelis*) no Lietuvas.

Literatūra

1. Sipponen, P., Hyvarinen, H. Role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of gastritis, peptic ulcer and gastric cancer. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* 1993; 196: 3–6.
2. Kandulski, A., Selgrad, M., Malfertheiner, P. *Helicobacter pylori* infection: a clinical overview. *Dig Liver Dis.* 2008; Aug., 40(8): 619–26.
3. Vaira, D., Gatta, L., Ricci, C., Miglioli, M. Review article: diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2002; March, 16 Suppl. 1: 16–23.
4. Mégraud, F. Growing demand for *Helicobacter pylori* culture in the near future. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1997; Dec., 29(6): 574–6.
5. Glupczynski, Y. Microbiological and serological diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: an overview. *Acta Gastroenterol. Belg.* 1998; Jul.-Sep.; 61(3): 321–6.
6. Boyanova, L. Detection of *Helicobacter pylori* infection in symptomatic Bulgarian adults. *Clinical Microbiology and Infection.* 2007; 13: 908–914.

Summary

Helicobacter pylori (Hp) is the major causal factor in chronic gastritis. Its acquisition leads to a chronic, usually lifelong, inflammation of the gastric mucosa, which may gradually progress to atrophy (with intestinal metaplasia) in a significant proportion of infected individuals. This progression is probably multifactorial, influenced by genetic or environmental factors in addition to Hp infection.

In a prospective study, 5 Hp diagnostic tests in Latvian patients were compared. Patients older than 55 years with dyspeptic complaint were included in the study, therefore upper endoscopy was indicated. Atrophy was determined histologically, whereas Hp was diagnosed with the help of five tests: rapid urease test, ¹³C urease breath test, histologically, by Hp IgG/IgA antibody test (serology), and by culture (Hp) determination.

The research results proved that the accuracy of diagnostic tests slightly differs in patients with atrophy compared to patients without atrophy. In both groups the method of culture diagnostics was the test with the highest accuracy; in contrast, rapid urease tests were proved to be the most inaccurate. Evaluating histology, serology, and ¹³C urease breath test as the Hp diagnostic methods, however, the data differed a little in both groups.

The research data illustrate the importance of available everyday tests in diagnostics of Hp infection in patients with and without atrophy.

Keywords: atrophy, *Helicobacter pylori*, intestinal metaplasia.

Elptestu datu un CYP 450 polimorfisma izvērtējums kā iespējamā izvēles metode paklitakselu saturošās ķīmijterapijas efektivitātes un drošības izvērtēšanā *Evaluation of Breath Test Data and CYP450 Polymorphism for Estimation of Efficiency and Safety of Paclitaxel Chemotherapy*

**Liene Ozola,^{1,4} Evita Rostoka,³ Uldis Vikmanis,¹ Žanete Zvirbule,⁴
Aija Linē,² Ilva Nakurte,⁵ Ilze Plinte,⁵ Pēteris Mekšs,⁵
Agnese Sudraba,^{2,4} Mārcis Leja^{1,4,6}**

¹Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001

²Latvijas Universitātes Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs,
Rātsupītes iela 1, Rīga, LV-1067

³Latvijas Organiskās sintēzes institūts, Aizkraukles iela 21, Rīga, LV-1006

⁴SIA "Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīca", Hipokrāta iela 4, Rīga, LV-1079

⁵Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultāte, K. Valdemāra iela 48, Rīga, LV-1013

⁶GASTRO, Linezera iela 6, Rīga, LV-1006

Paklitaksels mūsdienās tiek plaši izmantots vēža ķīmijterapijā. Parasti deva tiek nozīmēta pēc pacienta ķermeņa virsmas laukuma, nevis pēc preparāta metaboliskās aktivitātes. Paklitaksela darbības efektivitāte un blakusparādību smaguma pakāpe lielākoties ir ļoti individuāla. To ietekmē ne tikai apkārtējās vides un psiholoģiskie faktori, bet arī polimorfisms zāles metabolizējošos enzīmos, kas paklitaksela gadījumā ir CYP2C8, CYP3A4 un CYP3A5. Cītochromu darbību ir iespējams monitorēt ar neinvazīvu metodi, elptestu, ko praksē izmanto aknu funkcionālo rādītāju noteikšanai, slimības gaitas un terapijas efektivitātes novērošanai. Šajā rakstā aplūkoti eritromicīna un aminopirīna elptesti, kas var tikt izmantoti paklitaksela metabolisma izvērtēšanā, kā arī CYP2C8, CYP3A4 un CYP3A5 polimorfisma varianti, kas, iespējams, ietekmē paklitaksela terapijas efektivitāti.

Atslēgvārdi: paklitaksels, CYP2C8, CYP3A4, eritromicīna elptests, aminopirīna elptests.

Paklitaksels (taksols) ir hidrofoba antineoplastiska viela ar spēcīgu pretvēža aktivitāti, kas ļauj ārstēt olnīcu, plaušu, krūšu dziedzeru onkoloģiskās slimības (Scripture et al., 2005). Paklitaksela darbības efektivitāte un blakusparādību smaguma pakāpe lielākoties ir ļoti individuāla. To ietekmē ne tikai apkārtējās vides un psiholoģiskie faktori, bet arī polimorfisms zāļu metabolizējošo enzīmu, transportieru un/vai mērķu gēnos (Henningsson et al., 2005). Dažādo faktoru variācijas dēļ ir novērojama atšķirīga paklitaksela koncentrācija asins plazmā (Nakajima et al., 2005). Ja katram pacientam individuāli būtu iespējams paredzēt paklitaksela blakusparādības, tas varētu paaugstināt zāļu darbības efektivitāti un drošību.

Funkcionāls ģenētisks polimorfisms zāļu metabolizējošiem enzīmiem ir atzīts par kritisku faktoru, kas ietekmē zāļu farmakokinētiku (Nakajima et al., 2005).

Paklitaksela metabolisms

Paklitaksela detoksikācija organismā galvenokārt notiek caur oksidatīvo metabolismu un žults ekskrēciju, un tikai 5–10% paklitaksela tiek izvadīti ar urīnu (Spratlin et al., 2006). Cilvēka organismā ir atklāti trīs paklitaksela metabolīti: 6 α -hidroksipaklitaksels, 3'-p-dihidroksipaklitaksels un 6 α , 3'-p-dihidroksipaklitaksels (Nakajima et al., 2005). Visi trīs metabolīti ir mazāk citotoksiski nekā paklitaksels (Harris et al., 1994). Paklitaksela metabolismu katalizē citohroma P 450 (CYP450) enzīmi. 6 α -hidroksipaklitaksela veidošanu katalizē CYP2C8 enzīms (Rahman et al., 1994). 3'-p-dihidroksipaklitaksela veidošanos katalizē CYP3A4 enzīms (Harris et al., 1994). 6 α , 3'-p-dihidroksipaklitaksels veidojas, mijiedarbojoties CYP2C8 un CYP3A4 enzīmiem. Daži autori raksta, ka paklitaksels ir substrāts arī CYP3A5 enzīmam (Henningsson et al., 2005). Tā kā 6 α -hidroksipaklitaksela koncentrācija attiecībā pret 3'-p-dihidroksipaklitaksela koncentrāciju cilvēka žultī ir 6:1, tad tiek uzskatīts, ka CYP2C8 ir galvenais enzīms, kas tiek iesaistīts paklitaksela detoksikācijā un izvadīšanā (Creteil et al., 1994; Rahman et al., 1994). Tomēr domas dalās un ir dati, kuros kā galvenais paklitaksela katabolisma enzīms tiek minēts CYP3A4 (Sonnichsen et al., 1995).

CYP2C8, CYP3A4 un CYP3A5

Citohroma P450 enzīmu grupa sastāv no hemoproteīniem, kas katalizē oksidatīvo metabolismu lielam daudzumam eksogēno aģentu, piemēram, zāles, steroīdus, karcinogēnus, toksīnus, kā arī endogēnos aģentus – steroīdus un taukskābes.

CYP2C8 gēns atrodas 10. hromosomā, 10q24.1, un sastāv no 9 eksoniem (Inoue et al., 1994). Šis gēns ekspresējas aknās un daudzos ekstrahepatiskos audos, tostarp nierēs, virsnieru dziedzeros, smadzenēs, dzemdē, olnīcās, krūšu dziedzeros un divpadsmitpirkstu zarnā (Klose et al., 1999).

CYP3A4 gēns ir ekspresēts vairākos audos, bet, izvērtējot tā lomu zāļu un ksenobiotisku vielu ietekmē uz organismu, CYP3A4 ekspresija aknās un tievajās zarnās ir visbūtiskākā (Guengerich, 1999). Gēns atrodas 7. hromosomā, 7q21.1, un sastāv no 13 eksoniem (Inoue et al., 1992; Hashimoto et al., 1993). CYP3A4 ir zināmi ap 40 haplotipus.

CYP3A5 atrodas 7. hromosomā, 7q21.1, un sastāv no 13 eksoniem (Aoyama et al., 1989). Tam ir 84–88% DNS sekvenču homoloģija ar CYP3A4 (McConn et al., 2004; Spratlin et al., 2006). Ir trīs nozīmīgi CYP3A5 haplotipi, no kuriem paklitaksels ir minēts kā substrāts CYP3A5*3 haplotipam (Yamaguchi et al., 2006).

Divas CYP2C8 alēles CYP2C8*2 (805A > T; Ile269Phe) un CYP2C8*3 (416G > A, 1196A > G; Arg139Lys, Lys399Arg) uzrāda tikai 15% no CYP2C8*1 (biežākais tips) enzīmu aktivitātes līmeņa. Kaut arī ir ziņojumi, ka CYP2C8*3 alēle tomēr nosaka 75% no CYP2C8*1 enzīma aktivitātes (Soyama et al., 2001). Pacientiem, kuriem ir CYP2C8*3 alēles heterozigota, uzrāda zemāku paklitaksela 6 α -hidroksilāzes aktivitāti, salīdzinot ar pacientiem, kuriem ir CYP2C8*1 homozigota.

CYP2C8*4 alēle (alēles frekvence kaukāziešu populācijā 7,5%) varētu noteikt samazinātu paklitaksela metabolismu, bet dati nav statistiski ticami (Bahadur et al., 2002). Pētījumā, kurā tika iesaistītie 97 eiropiešu populācijas pacienti, kas saņēma paklitaksela pretvēža terapiju, nekāda sakarība starp paklitaksela metabolismu un alēļu variantiem CYP2C8*2, *3 vai *4, CYP3A4*3 (1334T > C, Met445Thr; alēles frekvence 0,5–1,0%) un CYP3A5*3 (6986A > G, splaisinga defekts; alēles frekvence 92–93%) netika novērota (Henningsson et al., 2005; van Schaik et al., 2003).

Savukārt Nakajima, izmeklējot 235 japāņu pacientus, kur 8 bija CYP3A4*16B alēle (554C > G, Thr185Ser; alēles frekvence japāņu populācijā 1,7%) un < 0,1% kaukāziešu populācijā (van Schaik et al., 2003), uzrāda CYP3A4 mediētā ceļa samazināšanos par 20% un paklitaksela metabolisma palielināšanos caur CYP2C8 (Nakajima et al., 2006). Nekāda ietekme uz paklitaksela metabolismu arī nav novērota, pētot CYP3A4*18B (878T > C, Leu293Pro) alēli, kaut gan tās frekvence japāņu populācijā ir 3,7% (Nakajima et al., 2006), bet kaukāziešu populācijā – 0,1% (van Schaik et al., 2003).

Ir novērojumi, ka paklitaksela metabolisms atšķiras starp dzimumiem: 3'-p-hidroksipaklitaksela koncentrācija sievietēm ir par 20% augstāka, tātad varētu secināt, ka citohromu darbību ietekmē arī endogēnie steroidi (van Schaik, 2008).

Potenciālie ķīmijterapijā izmantojamie elptesti

Pēdējos gados neinvazīvo un mazinvazīvo metožu skaits gastroenteroloģijā pastāvīgi pieaug. Kā viena no šīm metodēm ir elptesti. Elptestiem izmanto ¹³C izotopa atoma molekulu, stabilu, neradioaktīvu un videi nekaitīgu elementu, ko ievada ar izvēlēta substrāta starpniecību p/o. ¹³C izotopu diagnostiskām vajadzībām pētniecības laboratorijās plaši izmanto aptuveni 30 gadu (Modak et al., 2007). Enzīmiem mijiedarbojoties, izelpā atbrīvojas ¹³C. ¹³C/¹²C attiecības mērīšanai izelpā izmanto galvenokārt divas metodes: izotopa masas attiecības spektrometriju (IRMS, *isotope ratio mass spectrometry*, IRMS) un neizkliedējoša infrasarkanā spektrometriju (NDIRS, *isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry*, IRIS) (Leja et al., 2008). ¹³C substrāta daudzums tiek izmantots vairāku fizioloģisku funkciju izvērtēšanā vai enzīma aktivitātes novērtēšanā (Giannini et al., 2004), kā arī dažādu slimību progresa monitorēšanā un medikamentu efektivitātes novērtēšanā (Armuzzi et al., 2004).

Sakarā ar to, ka pašreiz tiek izvērtēta elptestu pielietošana pacientiem, kas saņem paklitakselu saturošu ķīmijterapiju, pētījumā tiek aprakstīti daži elptesti, kuru substrāti tiek metabolizēti caur tiem pašiem citohromiem (CYP3A4 un CYP2C8).

CYP3A4 enzīmi metabolizē lielu daļu farmakoloģisko preparātu, tostarp neoplastiskos, *docetaxel*, *etoposide*, *ifosfamide*, *irinotecan*, *tamoxifen*, u. c. (Guengerich, 1999). Savukārt CYP2C8 enzīmu substrāti ir *amodiaquine* (Li et al., 2002), *montelukast* (Walsky et al., 2005), *repaglinide* (Bidstrup et al., 2003), *rosiglitazone* (Baldwin et al., 1999), *torsemide* (Ong et al., 2000). CYP2C8 enzīmu inhibitori ir *gemfibrozol* (Niemi et al., 2003), *glitazones* (*thiazolidinediones*) (Sahi et al., 2003), *quercetin* (Marill et al., 2002), *trimetoprim* (Hruska et al., 2005). CYP2C8 enzīmu inducētājs ir *rifampin* (Raucy et al., 2002).

Aminopirīna elptests (AE). Aminopirīns ir enzīma CYP3A4 substrāts. Vēsturiski šis tests ir pirmais elptests, ko izmantoja aknu slimību novērtēšanā. Pašlaik AE ir viens no visbiežāk izmantojamiem elptestiem aknu mikrosomāla P450 enzīma aktivitātes un hepatocelulāro funkciju novērtēšanā (Giannini et al., 2004). Ir pētījumi, ka aktīva hroniska hepatīta pacientiem, izmantojot AE testu, iezīmētā $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ līmenis izelpā nozīmīgi samazinās salīdzinājumā ar hronisku persistentu hepatītu. Pacientiem ar hronisku B vai C hepatītu AE dati korelē ar aknu histoloģiskiem izmeklējumiem, iekaisumu vai fibrozi, kā arī *Child – Pugh* klasifikāciju (Fasiola et al., 2005). Pacientiem, kam konstatēta aknu ciroze, kuru izraisījis hronisks C hepatīts, AE rādītāji izteikti korelē ar *Child – Pugh* klasifikāciju, kur novēroja nozīmīgu atšķirību starp trim *Child – Pugh* novērtētājiem (Herold et al., 2005). Pēc *Giannini et al.* 2004. gada datiem, AE rādītāji korelē ar aknu fibrozes pakāpi un iekaisuma aktivitāti. Šo elptestu plaši izmanto aknu cirozes pacientiem kā metodi reziduālo mikrosomālo masu novērtēšanai un kā prognozes noteicēju. Ir pētījumi, kur AE rādītāji precīzi identificē pacientus ar dažādiem aknu bojājumiem vai nāvi pēc saindēšanās ar paracetamolu (Braden et al., 2007). Daudzi medikamenti ir AE rezultātu inducētāji. To vidū ir fenobarbitāls, steroīdi, spironolaktoni, nikotīns u. c., kā arī nomācēji – cimetidīns, allopurinols, citostatiskie medikamenti, interferons (Braden et al., 2007). Dati par to, ka šis tests tiktu izmantots ķīmijpreparātu izvērtēšanā, netika atrasti.

Otrs aplūkojamais tests ir **Eritromicīna elptests (EE)**. Eritromicīns iet caur citohroma P450 CYP3A4, CYP3A5 enzīmiem. EE tiek izmantots kā neinvazīva metode cilvēka CYP3A4 aktivitātes noteikšanai. Ir ziņojumi par nozīmīgu eritromicīna elptesta rādītāju pieaugumu vai kritumu pēc terapijas ar CYP3A inducētājiem (deksametazonu un rimfapicīnu). Šai grupai novēro nozīmīgu korelāciju starp elptestu un aknu CYP3A līmeni pacientiem ar dažādām aknu slimībām (Watkins et al., 2002.). CYP3A4 ir galvenais atbildīgais ciklosporīna A metabolismā, tāpēc tiek izmantots arī kā tā līmeņa noteicējs (Armuzzi, 2002). *Perri F. et al* 2006. gadā ziņo, ka eritromicīna elptests nozīmīgi korelē ar aknu CYP3A proteīna līmeni un aknu transplantantu recipientu katalītisko aktivitāti agrīnā pēcoperācijas periodā. Šo elptestu izmanto arī kā medikamentu individuālu devu noteicēju imūnsupresīvai terapijai pēc aknu transplantācijas, kā arī vairākiem antineoplastiskiem medikamentiem (*Perri F. et al.*, 2006).

Secinājums

Apkopojot visu iepriekšminēto, var secināt, ka paklitaksela ķīmijterapijas izvērtēšana ar elptestu metodi būtu vērtīgs rādītājs aknu toksicitātes noteikšanai, kas būtu prognostisks rādītājs paklitaksela efektivitātei un lietošanas drošībai. Savukārt lai optimāli izvērtētu paklitaksela katabolismu caur CYP3A4 un CYP2C8 enzīmiem ar elptesta metodi, būtu nepieciešams piemeklēt elptestu substrātu vai substrātus, kas tiktu katabolizēti, ideāli 100%, ar iepriekšminētiem citohromiem. Vērtīgi būtu arī izpētīt Latvijas populācijā, kāds ir CYP2C8 un CYP3A4 polimorfisms, kā arī to korelāciju ar elptestu un citiem paklitaksela efektivitātes un toksicitātes datiem. Visi šie rezultāti nākotnē, iespējams, ļaus piemeklēt katram pacientam individuālu, īpaši viņam piemērotu ķīmijterapiju.

Pateicības

Darbs tika veikts ar Latvijas Universitātes pētniecības granta (2007/ZP-83) un Valsts Pētījumu programmas medicīnā Nr. 8 (projekts Nr. 3) atbalstu. Autori izsaka pateicību Eiropas Sociālajam fondam par finansiālu palīdzību.

Literatūra

1. Aoyama, T., Yamano, S., Waxman, D. J., Lapenson, D. P., Meyer, U. A., Fischer, V., Tyndale, R., Inaba, T., Kalow, W., Gelboin, H. V. et al. Cytochrome P-450 hPCN3, a novel cytochrome P-450 IIIA gene product that is differentially expressed in adult human liver. cDNA and deduced amino acid sequence and distinct specificities of cDNA-expressed hPCN1 and hPCN3 for the metabolism of steroid hormones and cyclosporine. *J. Biol. Chem.* 1989; 264, No. 18: 10388–10395.
2. Armuzzi, A., Candelli, M., Zocco, M. A., Andreoli, A., De Lorenzo, A., Nista, E. C., Miele, L., Cremonini, F., Cazzato, I. A., Grieco, A., Gasbarrini, G., Gasbarrini, A. Review article: breath testing for human liver function assessment. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2002; 16(12): 1977–1996.
3. Bahadur, N., Leathart, J. B. S., Mutch, E., Steimel-Crespi, D., Dunn, S. A., Gilissen, R. et al. CYP2C8 polymorphisms in Caucasians and their relationship with paclitaxel 6-hydroxylase activity in human liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.* 2002; 64: 1579–1589.
4. Baldwin, S. J., Clarke, S. E., Chenery, R. J. Characterization of the cytochrome P450 enzymes involved in the *in vitro* metabolism of rosiglitazone. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1999; 48(3): 424–432.
5. Bidstrup, T. B., Bjornsdottir, I., Sidelmann, U. G., Thomsen, M. S., Hansen, K. T. CYP2C8 and CYP3A4 are the principal enzymes involved in the human *in vitro* biotransformation of the insulin secretagogue repaglinide. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2003; 56(3): 305–314.
6. Braden, B., Lembcke, B., Kuker, W., Caspary, W. F. ¹³C-breath tests: current state-of-the-art and future directions. *Dig. Liver Dis.* 2007; 39(9): 795–805.
7. Cresteil, T., Monsarrat, B., Alvinerie, P., Tréluyer, J. M., Vieira, I., Wright, M. Taxol metabolism by human liver microsomes: identification of cytochrome P450 isozymes involved in its biotransformation. *Cancer Res.* 1994; 54(2): 386–392.
8. Fischer, H., Wetzel, K. The future of ¹³C-breath tests. *Food Nutr. Bull.* 2004; 23 (3 Suppl): 53–56.
9. Giannini, E., Fasoli, A. ¹³C Aminopyrine breath test and ¹³C galactose breath test for the study of liver function in chronic liver disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2005; 3: 279–85.
10. Giannini, E., Testa, R. ¹³C-breath tests and liver fibrosis. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2004; 8(1): 51–54.
11. Guengerich, F. P. CYTOCHROME P-450 3A4: Regulation and Role in Drug Metabolism. *Pharmacol. Toxicol.* 1999; 39: 1–17.
12. Harris, J. W., Rahman, A., Kim, B. R., Guengerich, F. P., Collins, J. M. Metabolism of taxol by human hepatic microsomes and liver slices: participation of cytochrome P450 3A4 and an unknown P450 enzyme. *Cancer Res.* 1994; 54(15): 4026–4035.
13. Hashimoto, H., Toide, K., Kitamura, R., Fujita, M., Tagawa, S., Itoh, S., Kamataki T. Gene structure of CYP3A4, an adult-specific form of cytochrome P450 in human livers, and its transcriptional control. *Eur. J. Biochem.* 1993; 218(2): 585–95.

14. Henningsson, A., Marsh, S., Loos, W. J., Karlsson, M. O., Garsa, A., Mross, K., Mielke, S., Viganò, L., Locatelli, A., Verweij, J., Sparreboom, A., McLeod, H. L. Association of CYP2C8, CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 polymorphisms with the pharmacokinetics of paclitaxel. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11(22): 8097–8104.
15. Hruska, M. W., Amico, J. A., Langae, T. Y., Ferrell, R. E., Fitzgerald, S. M., Frye, R. F. The effect of trimethoprim on CYP2C8 mediated rosiglitazone metabolism in human liver microsomes and healthy subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* Jan 2005; 59(1): 70–79.
16. Inoue, K., Inazawa, J., Suzuki, Y., Shimada, T., Yamazaki, H., Guengerich, F. P., Abe, T. Fluorescence *in situ* hybridization analysis of chromosomal localization of three human cytochrome P450 2C genes (CYP2C8, 2C9, and 2C10) at 10q24.1. *Jpn. J. Hum. Genet.* 1994; 39(3): 337–343.
17. Inoue, K., Inazawa, J., Nakagawa, H., Shimada, T., Yamazaki, H., Guengerich, F. P., Abe, T. Assignment of the human cytochrome P-450 nifedipine oxidase gene (CYP3A4) to chromosome 7 at band q22.1 by fluorescence *in situ* hybridization. *Jpn. J. Hum. Genet.* 1992; 37(2): 133–138.
18. Klose, T. S., Blaisdell, J. A., Goldstein, J. A. Gene structure of CYP2C8 and extrahepatic distribution of the human CYP2Cs. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 1999; 13(6): 289–295.
19. Leja, M., Zvirbule, Z., Sudraba, A., Nakurte, I., Plinte, I., Mekshs, P., Tolmanis, I., Boka, V., Vikmanis, U. Liver Function as Determined by ¹³C Methacetine Breath Test Following the Admission of Paclitaxel-Based Chemotherapy. *Scientific Papers of the University of Latvia, Medicine.* 2008; 735: 151–156.
20. Li, X. Q., Bjorkman, A., Andersson, T. B., Ridderstrom, M., Masimirembwa, C. M. Amodiaquine clearance and its metabolism to N-desethylamodiaquine is mediated by CYP2C8: a new high affinity and turnover enzyme-specific probe substrate. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002; 300(2): 399–407.
21. Marill, J., Capron, C. C., Idres, N., Chabot, G. G. Human cytochrome P450s involved in the metabolism of 9-cis- and 13-cis-retinoic acids. *Biochem. Pharmacol.* 2002; 63(5): 933–943.
22. McConn, D. J. II, Lin, Y. S., Allen, K., Kunze, K. L., Thummel, K. E. Differences in the inhibition of cytochromes P450 3A4 and 3A5 by metabolite-inhibitor complex-forming drugs. *Drug Metab. Dispos.* 2004; 32(10): 1083–1091.
23. Modak, S. A. Stable isotope breath tests in clinical medicine: a review. *Journal of breath research.* 2007; 1 014003 (13 p.).
24. Nakajima, M., Fujiki, Y., Kyo, S., Kanaya, T., Nakamura, M., Maida, Y., Tanaka, M., Inoue, M., Yokoi, T. Pharmacokinetics of paclitaxel in ovarian cancer patients and genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP3A4, and MDR1. *J. Clin. Pharmacol.* 2005; 45(6): 674–682.
25. Niemi, M., Backman, J. T., Granfors, M., Laitila, J., Neuvonen, M., Neuvonen, P. J. Gemfibrozil considerably increases the plasma concentrations of rosiglitazone. *Diabetologia.* 2003; 46(10): 1319–1323.
26. Ong, C. E., Coulter, S., Birkett, D. J., Bhasker, C. R., Miners, J. O. The xenobiotic inhibitor profile of cytochrome P4502C8. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2000; 50(6): 573–580.
27. Perri, F., Marras, R. M., Ricciardi, R., Quitadamo, M., Andriulli, A. ¹³C-breath tests in hepatology (cytosolic liver function). *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2004; 8(1): 47–49.
28. Rahman, A., Korzekwa, K. R., Grogan, J., Gonzalez, F. J., Harris, J. W. Selective biotransformation of taxol to 6 alpha-hydroxytaxol by human cytochrome P450 2C8. *Cancer Res.* 1994; 54(21): 5543–5546.

29. Raucy, J. L., Mueller, L., Duan, K., Allen, S. W., Strom, S., Lasker, J. M. Expression and Induction of CYP2C P450 Enzymes in Primary Cultures of Human Hepatocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002; 302(2): 475–482.
30. Sahi, J., Black, C. B., Hamilton, G. A., Zheng, X., Jolley, S., Rose, K. A., Gilbert, D., LeCluyse, E. L., Sinz, M. W. Comparative effects of thiazolidinediones on *in vitro* P450 enzyme induction and inhibition. *Drug Metab. Dispos.* 2003; 31(4): 439–446.
31. Scripture, Ch. D., Sparreboom, A., Figg, W. D. Modulation of cytochrome P450 activity: implications for cancer therapy. *Lancet Oncol.* 2005; 6: 780–789.
32. Sonnichsen, D. S., Liu, Q., Schuetz, E. G., Scuetz, J. D., Pappo, A., Relling, M. V. Variability in Human Cytochrome P450 Paclitaxel Metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1995; 275: 566–575.
33. Soyama, A., Saito, Y., Hanioka, N., Maruyama, N., Nakajima, O., Katori, N., et al. Non-synonymous single nucleotide alterations found in the CYP2C8 gene result in reduced *in vitro* paclitaxel metabolism. *Biol. Pharm. Bull.* 2001; 24: 1427–1430.
34. Spratlin, J., Sawyer, M. B. Pharmacogenetics of paclitaxel metabolism. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2006; 61(3): 222–229.
35. Van Schaik, R. H. CYP450 pharmacogenetics for personalizing cancer therapy. *Drug Resist. Updat.* 2008; 11(3): 77–98.
36. Walsky, R. L., Obach, R. S., Gaman, E. A., Gleeson, J. P., Proctor, W. R. Selective inhibition of human cytochrome P4502C8 by montelukast. *Drug Metab. Dispos.* 2005, 33(3): 413–418.
37. Yamaguchi, H., Hishinuma, T., Endo, N., Tsukamoto, H., Kishikawa, Y., Sato, M., Murai, Y., Hiratsuka, M., Ito, K., Okamura, C., Yaegashi, N., Suzuki, N., Tomioka, Y., Goto, J. Genetic variation in ABCB1 influences paclitaxel pharmacokinetics in Japanese patients with ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2006; 16(3): 979–985.

Summary

Paclitaxel is widely used for cancer chemotherapy. The dosage is usually prescribed based on the body surface area of a patient, but not the metabolic activity of the drug. However, the efficiency of paclitaxel and the gravity of its side effects can vary in different individuals not only due to environmental and psychological factors, but also because of the polymorphisms in the metabolizing enzymes, CYP2C8, CYP3A4, and CYP3A5. Activity of cytochromes can be monitored by a non-invasive breath test that is used in clinical practice to determine functional parameters of liver, as well as for monitoring progress of a disease and efficiency of therapy. In this article, erythromycin and aminopyrin breath tests are reviewed; they can be used for evaluation of paclitaxel metabolism as well as the CYP2C8, CYP3A4, and CYP3A5 polymorphic variants that may affect the efficiency of paclitaxel therapy. The reviewed data allow to draw a conclusion that evaluation of the efficiency of paclitaxel chemotherapy with a breath test could be a valuable indicator for liver toxicity, which, in turn, could serve for prognosis of paclitaxel efficiency and safety for a patient. Investigation of the CYP2C8 and CYP3A4 polymorphisms in Latvian population could provide valuable information, in particular considering their correlation with breath test data and other data on efficiency and toxicity of paclitaxel, which in future may allow to design chemotherapy fitted for each individual patient.

Keywords: *paclitaxel, CYP2C8, CYP3A4, erythromycin breath test, aminopyrin breath test.*

Mildronate Protects from Azidothymidine-Induced Hepatotoxicity in Mice Liver

Mildronāta protektīvie efekti azidotimidīna izraisītajā hepatotoksicitātē pelēm

**Jolanta Pupure¹, Sergejs Isajevs², Aina Kratovska², Valentīna
Gordjušina², Immanuel Taivans², Juris Rumaks¹, Darja Svirina²,
Ludmila Viksna³, Ivars Kalviņš⁴, Vija Kluša¹**

¹Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Latvia,
J. Asara Str. 5, LV-1009, Rīga, Latvia

²Department of Pathology, Faculty of Medicine, University of Latvia,
Lielvārdes Str. 68, LV-1006, Rīga, Latvia

³Infectology Centre of Latvia, 3 Linezera Str., LV-1006, Rīga, Latvia

⁴Latvian Institute of Organic Synthesis, 21 Aizkraukles Str., LV-1006, Rīga, Latvia

The study of mice was carried out with mildronate, a highly potent drug capable of protecting dysfunction of mitochondrial processes. Saline (control), azidothymidine (AZT, 50 mg/kg), mildronate (50, 100, 200 mg/kg), and AZT + mildronate were intraperitoneally injected in mice daily for two weeks. Afterwards the liver was removed and examined morphologically and immunohistochemically. AZT, compared to the control and mildronate groups, induced major degenerative and inflammatory responses in liver, manifested as steatosis, inflammation, focal hepatocyte ballooning, apoptosis, and necrosis. However, mildronate at a dose of 50 mg/kg, and partially at a dose of 100 mg/kg, not at a dose of 200 mg/kg, prevented the AZT-induced changes. The obtained data demonstrate an ability of mildronate to prevent AZT-induced hepatotoxicity, indicating the usefulness of mildronate in the treatment of hepatic side effects caused by AZT (and/or other anti-HIV drugs). Mildronate's hepatoprotective effect can also be expected in other hepatic pathologies, suggesting its action via mitochondria-regulating properties.

Keywords: mildronate, azidothymidine, hepatotoxicity, caspase-3, mice liver tissue.

Introduction

Mitochondria not only provide cell with energy, but also control cell survival (Hajnóczky et al, 2006). Mitochondrial dysfunction is present in many pathological conditions, including drug toxicity. One of the agents causing mitochondrial dysfunction is azidothymidine (AZT), which belongs to the class of nucleoside-analog reverse transcriptase inhibitor (NRTI) drugs, and is used in the treatment of HIV-infected AIDS patients. However, its use is limited due to damage of many tissues, including skeletal and cardiac muscle (myopathy, cardiomyopathy (2)) and liver tissue (steatosis, liver failure) (3-5). These side effects are related to mitochondrial damage associated with mitochondrial DNA depletion, presumably by inhibition of the mitochondrial DNA polymerase γ (6, 7), and is followed by a

cascade of deleterious events, including the release of cellular lactate and defective liver fatty acid β -oxidation leading to steatosis.

Recent data showed that AZT is a potent inhibitor of thymidine phosphorylation, and this process is comparable in hepatic and heart mitochondria (8). AZT-induced degenerative and oxidative responses lead to hepatocyte degenerative changes and inflammation (9); furthermore, it can result in irreversible hepatocyte damage that manifests as apoptosis and/or necrosis. In order to reduce AZT toxicity, it is given by much smaller doses and in combination with other drugs, which results in reduction of adverse effects; however, hepatotoxicity and lipodystrophy are commonly observed in combination therapy (10-12).

We suggested that mildronate, previously known as a cardioprotective drug of aza-butYRObetaine class, has an ability to protect liver tissue from AZT-induced toxicity. This suggestion is based on recently obtained data. For instance, it was found that mildronate's cardioprotective action is provided via inhibition of carnitine palmytol transferase 1 in rat liver tissue fractions of mitochondria, thus lowering the amount of activated free fatty acids which have detergent-like functions (13). Previously we also demonstrated that mildronate prevents AZT-induced degenerative and inflammatory responses in mice myocardium (14). Recently we found a direct mitochondria-protecting effect of mildronate in isolated liver mitochondria, which manifested as reduced AZT-induced hydrogen peroxide (H_2O_2) generation, as well as inhibition of uncoupled respiration, ADP/oxygen ratio, and transmembrane potential (15). Furthermore, mildronate action is directed towards mitochondrial processes by improving ATP transport and reducing cell oxidative stress.

In the present study, we have focused our attention on mildronate's ability to protect the AZT-caused hepatotoxicity in mice liver tissue *ex vivo*. As the marker of apoptotic processes, the caspase-3 expression was assessed immunohistochemically. Liver tissue was also examined morphologically.

Materials and Methods

Chemicals. Azidothymidine (3'-azido-3'-deoxythymidine, AZT, zidovudine, retrovir*, 100 mg capsules, Wellcome Foundation Ltd, London); mildronate [3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate dihydrate], synthesized at the Latvian Institute of Organic Synthesis and manufactured at the Joint Stock Company "Grindeks" (Rīga, Latvia); caspase-3 rabbit polyclonal antibody (AbCam, UK), dilution 1 : 100; peroxidase-conjugated polyclonal goat anti-rabbit IgG and polyclonal rabbit anti-goat IgG, serum-free protein block, citrate buffer, 0.5% H_2O_2 , and diaminobenzidine (Dako, Denmark). Mildronate was dissolved in saline and prepared as a 2% stock solution. Water suspension of AZT (1% stock suspension) was made by adding 1–2 drops of 0.6% TWIN-80, and then diluted by saline to the appropriate concentration.

Animals. ICR male mice (from the Laboratory of Experimental Animals, Rīga Stradiņš University, Rīga, Latvia) each weighed 15.69 ± 1.56 g at the beginning of the experiment. The environment was maintained at 22 ± 0.5 °C with a 12-h light/dark cycle. The mice were fed a standard laboratory diet.

Experiment design. The two-week experiment was carried out in mice, administrating drugs at a volume of 10 ml/kg intraperitoneally in both sides of the following mice groups ($n = 10$):

- Group I: saline (left side) + saline (right side);
- Group II: azidothymidine, 50 mg/kg (left) + saline (right);
- Group III: mildronate, 50 mg/kg (left) + saline (right);
- Group IV: mildronate, 100 mg/kg (left) + saline (right);
- Group V: mildronate, 200 mg/kg (left) + saline (right);
- Group VI: mildronate, 50 mg/kg (left) + azidothymidine, 50 mg/kg (right);
- Group VII: mildronate, 100 mg/kg (left) + azidothymidine, 50 mg/kg (right);
- Group VIII: mildronate, 200 mg/kg (left) + azidothymidine, 50 mg/kg (right).

On day 15, mice were disposed of by decapitation; the liver was removed and fixed in 10% neutral buffered formalin, processed and embedded routinely.

Morphological examination. Paraffin-embedded tissue was cut in 4-micron-thick sections and stained with haematoxylin-eosin and Van Gieson's method for morphological examination. Steatosis was evaluated and graded as the percentage of steatotic hepatocytes: less than 5% of steatotic hepatocytes were considered to be minimal steatosis; up to 30% were classified as mild steatosis, and more than 30% were defined as moderate/severe steatosis. Apoptotic cells were recognized by characteristic morphological features, such as chromatin condensation, cytoplasm shrinkage, nuclear fragmentation, sarcolemmal invaginations without loss of membrane integrity, and final engulfment of apoptotic bodies by macrophages (16). Morphometrical analysis of liver tissue was performed using image analysis software *Motic Image Advanced 3.2* (Motic, China).

Histological activity index (HAI). Histological activity index was assessed in hematoxylin- and eosin-stained slides according to modified *Ishak* scoring method (17). Briefly, periportal or periseptal interface hepatitis (from 0 to 4 score), confluent necrosis (from 0 to 6 score), focal lytic necrosis, apoptosis, focal inflammation (from 0 to 4 score), and portal inflammation (from 0 to 4 score) were calculated and the final result was expressed as the total sum of all 4 scores.

Immunohistochemical examination. According to the immunohistochemical method described elsewhere (18), tissue sections were stained for visualisation of caspase-3-positive cells. Briefly, antigen retrieval was achieved by the treatment in microwaves for 20 min at 300 W in citrate buffer, pH = 6.0. Endogenous peroxidase activity was blocked by 0.5% H₂O₂ for 10 min. Nonspecific primary antibody binding was blocked by serum-free protein block for 10 min. Rabbit polyclonal active (cleaved) caspase-3 antibody was applied at 1 : 100 and incubated for 1 h at room temperature in a humidified chamber. Detection of primary antibody binding was performed using specific peroxidase-conjugated polyclonal goat anti-rabbit IgG (at 1 : 100 for 30 min) and, subsequently, peroxidase-conjugated polyclonal rabbit anti-goat IgG at 1 : 100 for 30 min. The immunoperoxidase colour reaction was developed by incubation with diaminobenzidine (5 min). A negative control without primary antibody was included in each staining run. Caspase-3-positive cells (nuclear

and cytoplasmic staining) were counted in 10 high-powered fields at magnification 400 times. All cell counts were expressed as cells per mm².

Animal ethics. All experimental procedures were carried out in accordance with the guidelines of the Directive 86/609/EEC “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (1986) and were approved by the Latvian Animal Ethics Committee of the Food and Veterinary Service, Rīga, Latvia.

Statistics. For statistical analysis, *GraphPad Prism 4* software was used. Results are expressed as the mean ± SEM values, and significance set at $p < 0.05$ (unpaired t-test or Mann-Whitney U test for cellular infiltration and megakaryocyte upregulation scores).

Results

Our morphological examination showed that in comparison to saline (Fig. 1A) and mildronate (Fig. 1B), AZT (Fig. 1C, 1D) at a dose of 50 mg/kg induced both degenerative and inflammatory responses in mice liver tissue that manifested as focal hepatocyte ballooning, moderate steatosis, apoptosis and necrosis, dilated portal tracts, increased infiltration of liver tissue by inflammatory cells.

Figure 2 shows the drug influence on histological activity index (HAI). AZT significantly increased HAI compared to the control group (3.2 ± 0.2 vs. 1.3 ± 0.4 , scores, $p < 0.0001$). Mildronate per se at a dose of 50 mg/kg did not cause any significant changes in liver tissue morphology; at higher doses it caused a slight focal hepatocyte fatty degeneration and inflammatory cell infiltration in portal tracts. The HAI values for mildronate at doses of 100 and 200 mg/kg vs. control were 1.9 ± 0.1 vs. 1.3 ± 0.4 , scores, $p = 0.002$; and 1.8 ± 0.1 vs. 1.3 ± 0.4 , scores, $p = 0.003$, respectively. Mildronate at doses of 50mg/kg and 100 mg/kg significantly reduced the azidothymidine-induced morphologic changes (HAI) mentioned above: 1.8 ± 0.1 vs. 3.2 ± 0.2 , scores, $p < 0.0001$, and 2.6 ± 0.2 vs. 3.2 ± 0.2 , scores, $p = 0.01$, respectively (Fig. 2). However, mildronate at a dose of 200 mg/kg did not significantly reverse AZT-induced changes (Fig. 2).

Figure 3B shows that AZT significantly increased (about 5-fold) the total number of caspase-3-positive cells in liver compared to saline (Fig. 3A): 33.0 ± 3.9 vs. 6.2 ± 1.4 cells/mm², $p < 0.0001$. Mildronate per se at doses of 50 mg/kg (Fig. 3C, Fig. 4) and 100 mg/kg (Fig. 4) did not increase caspase-3 expression; however, at a dose of 200 mg/kg (Fig. 4) mildronate increased caspase-3 expression about 3-fold in comparison to the control group (17.8 ± 2.6 vs. 6.2 ± 1.4 cells/mm², $p = 0.001$). Mildronate at doses of 50 mg/kg (Fig. 3D, Fig. 4) and 100 mg/kg (Fig. 4) reduced the AZT-induced caspase-3 overexpression (17.7 ± 1.9 vs. 33.0 ± 3.9 cells/mm², $p = 0.0029$ and 21.7 ± 2.6 vs. 33.0 ± 3.9 cells/mm², $p = 0.0266$, respectively). Mildronate at a dose of 200 mg/kg did not influence the AZT effect on caspase-3 expression (Fig. 4).

Discussion

In this study, AZT induced major degenerative and inflammatory responses in mice liver manifested as micro- and macrovesicular steatosis, hepatocyte ballooning, focal apoptotic and necrotic changes, as well as an increased number of inflammatory cells and megacaryocytes. AZT also significantly increased caspase-3 expression in mice liver. This demonstration is consistent with previous studies which have noted AZT-induced major histopathological changes in liver tissue (4, 11, 19–24). All of these AZT-induced pathophysiological events involve mitochondrial oxidative stress, mtDNA damage, impairment of mitochondrial β -oxidation (6, 19, 25–28).

Our concept suggests that mitochondrial dysfunction may be prevented by mitochondria-targeted drugs. Our previous studies in isolated rat liver mitochondria (15) have revealed an ability of mildronate, a representative of aza-butYRObetaine series, to prevent directly the abnormal formation of mitochondrial H_2O_2 caused by AZT, an anti-HIV drug. The cell protecting capacity of mildronate was also apparent in the prevention of the AZT-induced damage in cardiac (14) and nerve tissues (29, 30). Therefore it was interesting to examine whether mildronate may act as a hepatoprotective drug against the AZT toxicity *in vivo* (*ex vivo*).

Our results demonstrate for the first time that mildronate administered intraperitoneally in mice for two weeks at doses of 50mg/kg and 100 mg/kg significantly protected hepatocytes from AZT-induced damage, like focal hepatocyte necrosis, infiltration of inflammatory cells and decreased caspase-3 expression in mice liver *ex vivo*. Caspase-3 is one of the critical mediators involved in DNase activation, followed by DNA fragmentation and apoptosis (31, 32).

In the present study, mildronate at doses of 50 mg/kg and 100 mg/kg also protected against AZT-induced inflammation manifested as the increase in HAI (focal hepatocyte fatty degeneration and infiltration of inflammatory cells). The higher tested dose of 200 mg/kg lacked these effects; moreover, it even increased caspase-3 expression and HAI. Mildronate's protecting activity at the level of the caspase-3 expression may be explained by its antioxidant action, since it improves mitochondrial β oxidation, increases ATP (13), and decreases hydrogen peroxide production (15). However, it remains to be established why the highest dose of mildronate causes a detrimental influence on caspase-3 activity and morphological state. In our previous experiments in mice neuronal cells (29, 30), mildronate per se did not influence caspase-3 expression at a dose range of 50–200 mg/kg, and protected from AZT-induced apoptosis at doses of 50 mg/kg and 100 mg/kg. Surprisingly, in mice heart tissue (14), the dose of mildronate of 200 mg/kg showed the strongest protection of AZT-induced cardiotoxicity by reducing the expression of nuclear factor kappaBp65, a marker of inflammation. Apparently mildronate's protective properties vary depending on doses and tissues.

To conclude, we have shown that mildronate, a mitochondria-targeted drug of aza-butYRObetaine class, may protect from AZT-induced inflammatory and degenerative changes in mice liver tissue. The high protective efficacy of small doses (particularly 50 mg/kg) of mildronate observed in anti-HIV drug AZT hepatotoxicity may indicate its beneficial usefulness in other hepatic pathologies as well.

Acknowledgements

This work was supported by the Grant of Latvian Council of Science No. 05-1418, ESF Grant ESS2004/3, Grant of the Agreement No. 2007/2362 between the University of Latvia and the Joint Stock Company “Grindeks”, L’ORÉAL fellowship “For Women In Science”, with the support of Latvian National Commission for UNESCO and Latvian Academy of Sciences.

References

- 1) Hajnoczky G., Csordas G., Das S., Garcia-Perez C., Saotome M., Sinha Roy S., Yi M. Mitochondrial calcium signalling and cell death: approaches for assessing the role of mitochondrial Ca²⁺ uptake in apoptosis. *Cell Calcium* 2006, 40: 553–560.
- 2) Szabados E., Fisher G. M., Toth K., Csete B., Nemeti B., Trombitas K., Habon T., Endrei D., Sumegi B. Role of reactive oxygen species and poly-ADP-ribose polymerase in the development of AZT-induced cardiomyopathy in rat. *Free Radic. Biol. Med.* 1999, 14: 309–317.
- 3) Olano J. P., Borucki M. J., Wen J. W., Haque A. K. Massive hepatic steatosis and lactic acidosis in a patient with AIDS who was receiving zidovudine. *Clin. Infect. Dis.* 1995, 21: 973–976.
- 4) Chariot P., Drogou I., Lacroix-Szmania I., Eliezer-Vanerot M. C., Chazaud B., Lombes A. et al. Zidovudine-induced mitochondrial disorder with massive liver steatosis, myopathy, lactic acidosis, and mitochondrial DNA depletion. *J. Hepatol.* 1999, 30: 156–160.
- 5) Deveaud C., Beauvoit B., Hagry S., Galinier A., Carriere A., Salin B. et al. Site-specific alterations of adipose tissue mitochondria in 3-azido-3-deoxythymidine (AZT)-treated rats: an early stage in lipodystrophy. *Biochem. Pharmacol.* 2005, 70: 90–101.
- 6) Lewis W., Dalakas M. C. Mitochondrial toxicity of antiviral drugs. *Nat. Med.* 1995, 1: 417–422.
- 7) Walker U. A., Venhoff N., Koch E. C., Olschewski M., Schneider J., Setzer B. Uridine abrogates mitochondrial toxicity related to nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors in HepG2 cells. *Antivir. Ther.* 2003, 8: 463–470.
- 8) Lynx M. D., Bentley A. T., McKee E. E. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) inhibits thymidine phosphorylation in isolated rat liver mitochondria: a possible mechanism of AZT hepatotoxicity. *Biochem. Pharmacol.* 2006, 71: 1342–1348.
- 9) Mak I. T., Nedelec L. F., Weglicki W. B. Pro-oxidant properties and cytotoxicity of AZT-monophosphate and AZT. *Cardiovasc. Toxicol.* 2004, 4: 109–115.
- 10) Spengler U., Lichterfeld M., Rockstroh J. K. Antiretroviral drug toxicity – a challenge for the hepatologist. *J. Hepatol.* 2002, 36: 283–294.
- 11) Cossarizza A., Moyle G. Antiretroviral nucleoside and nucleotide analogues and mitochondria. *AIDS* 2004, 18: 137–151.
- 12) Lewis W., Day B. J., Copeland W. C. Mitochondrial toxicity of NRTI antiviral drugs: an integrated cellular perspective. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2003, 2: 812–822.
- 13) Dambrova M., Liepinsh E., Kalvinsh I. Mildronate: cardioprotective action through carnitine-lowering effect. *Trends Cardiovasc. Med.* 2002, 9: 155–159.
- 14) Klusa V., Pupure J., Isajevs S., Rumaks J., Gordjushina V., Kratovska A. et al. Protection of azidothymidine-induced cardiopathology in mice by mildronate, a mitochondria-targeted drug. *Basic Pharmacol. Toxicol.* 2006, 99: 323–328.

- 15) Pupure J., Fernandes M. A. S., Santos M. S., Moreno A. J. M., Kalvinsh I., Klusa V., Oliveira C. R. Mitochondria as the target for mildronate's protective effects in azidothymidine (AZT)-induced toxicity of isolated rat liver mitochondria. *Cell Biochem. Funct.* 2008, 26: 620–631.
- 16) Geske F. J., Gerschenson L. E. The biology of apoptosis. *Human Pathol.* 2001, 32: 1029–1038.
- 17) Ishak K. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J. Hepatol.* 1995, 22: 696–699.
- 18) Di Stefano A., Caramori G., Oates T., Capelli A., Lusuardi M., Gnemmi I. et al. Increased expression of nuclear factor- κ B in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. *Eur. Respir. J.* 2002, 20: 556–563.
- 19) Kakuda T. N., Brundage R. C., Anderson P. L., Fletcher C. V. Nucleoside reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity as an etiology for lipodystrophy. *AIDS* 1999, 13: 2311–2312.
- 20) Chatta G., Arief A. I., Cummings C., Tierney L. M. Lactic Acidosis Complicating the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann. Intern. Med.* 1993, 118: 37–39.
- 21) Lewis W., Copeland W. C., Day B. J. Mitochondrial DNA Depletion, Oxidative Stress, and Mutation: Mechanisms of Dysfunction from Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors. *Lab. Invest.* 2001, 81: 777–790.
- 22) Freiman J. R., Helfert K. E., Hamrell M. R., Stein D. S. Hepatomegaly with severe steatosis in HIV-seropositive patients. *AIDS* 1993, 7: 379–385.
- 23) He M., Yang Y. Y., Zhu M., Wei X., Qin J., Zhang Z. J., Li L. Effects of 3'-azido-deoxythymidine on telomerase activity and protein expression of hepatocarcinoma cell line SMMC-7721. *Ai Zheng* 2006, 25: 543–548.
- 24) Jolliet P., Widmann J. J. Reye's syndrome in adult with AIDS (Letter). *Lancet* 1990, 335: 1457.
- 25) Schapira A. H., Cooper J. M. Mitochondrial function in neurodegeneration and ageing. *Mutat. Res.* 1992, 275: 133–143.
- 26) Brinkman K., Hofstede H. J., Burger D. M., Smeitink J. A., Koopmans P. P. Adverse effects of reverse transcriptase inhibitors: Mitochondrial toxicity as common pathway. *AIDS* 1998, 12: 1735–1744.
- 27) Kakuda T. N. Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity. *Clin. Ther.* 2000, 22: 685–708.
- 28) Swartz M. N. Mitochondrial toxicity: New adverse drug effects. *N. Engl. J. Med.* 1995, 333: 1099–1105.
- 29) Klusa V., Pupure J., Isajevs S., Rumaks J., Svirskis S., Kalvinsh I. Neuroprotective action of mildronate in anti-HIV drug-induced toxicity models in vivo. Congress of the Federation of European Pharmacological Societies. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2008, 22 (2): 91.
- 30) Pupure J., Isajevs S., Fernandes M. A. S., Rumaks J., Klusa V., Kalvinsh I. Mitochondria-targeted neuroprotective effects of mildronate. First Joint Congress of GCNN and SSNN. Abstract Book 2008, pp. 94.
- 31) Lakhani S. A., Masud A., Kuida K., Porter G. A. Jr, Booth C. J., Mehal W. Z., Inayat I., Flavell R. A. Caspases 3 and 7: Key Mediators of Mitochondrial Events of Apoptosis. *Science* 2006, 311: 847–851.
- 32) Enari M., Sakahira H., Yokoyama H., Okawa K., Iwamatsu A., Nagata S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature* 1998, 1: 43–50.

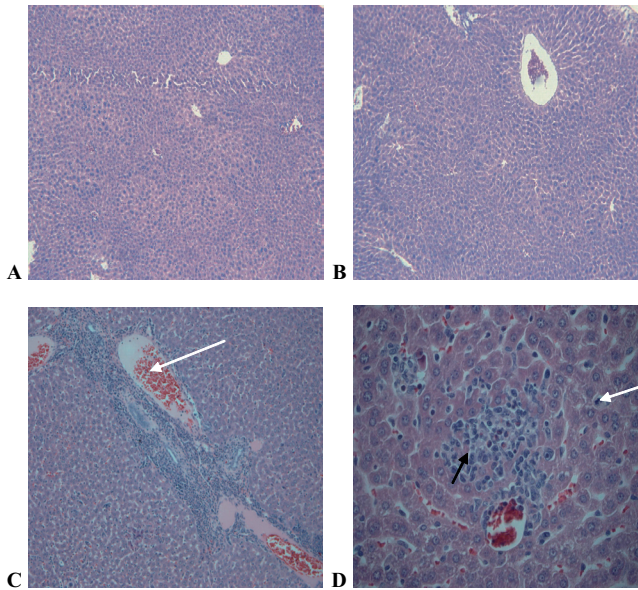
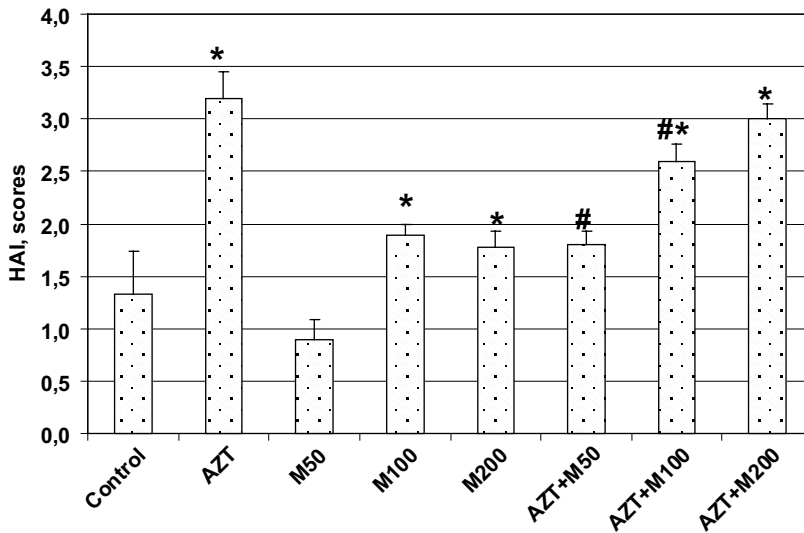


Fig. 1. Photomicrographs of mouse heart tissue stained with haematoxylin and eosin (A-D), magnification 200 times (A-C) and 400 times (D). Cotrol (A) and mildronate 50 mg/kg (B) did not cause morphological alterations. Azidothymidine- (AZT) induced dilation of portal tract and increased infiltration of inflammatory cells (C). White arrow indicates dilated portal tract. AZT-induced hepatocyte apoptosis (white arrow indicates apoptotic hepatocytes) and necrosis with subsequent inflammatory cell infiltration (D, black arrow).

Peļu sirds audu fotomikrogrāfija, krāsojot ar hematoksilīnu un eozīnu (A-D), palielinājums 200 reizes (A-C) un 400 reizes (D). Kontroles (A) un mildronāta (50 mg/kg, B) grupām nenovēroja morfoloģiskās izmaiņas. Azidotimidīns (AZT) izraisīja portālo traktu dilatāciju un palielināja iekaisuma šūnu infiltrāciju (C). Baltā bulta norāda portālo traktu dilatāciju. AZT izraisīja hepatocītu apoptozi (baltā bulta) un nekrozi, kam seko iekaisuma šūnu infiltrācija (D, melnā bulta).



*Fig. 2. The histological activity index (HAI) as a marker of liver tissue damage. Results are presented at scores. Mildronate (M) at doses 50, 100 and 200 mg/kg, azidothymidine (AZT) at 50 mg/kg, and AZT+M were administered intraperitoneally in mice daily for two weeks. Saline was administered for control. Statistical significance: * $P < 0.05$ vs. control group, and # $P < 0.05$ vs. AZT, unpaired t-test or Mann-Whitney test.*

*Histologiskās aktivitātes indekss (HAI) kā aknu audu bojājumu marķieris. Rezultāti izteikti ballēs. Mildronātu (M) devās 50, 100 un 200 mg/kg, azidotimidīnu (AZT) devā 50 mg/kg un AZT+M ievadīja pelēm intraperitoneāli divu nedēļu garumā. * $P < 0.05$ pret kontroles grupu, # $P < 0.05$ pret AZT, nesapārotais t-tests vai Mann-Whitney tests.*

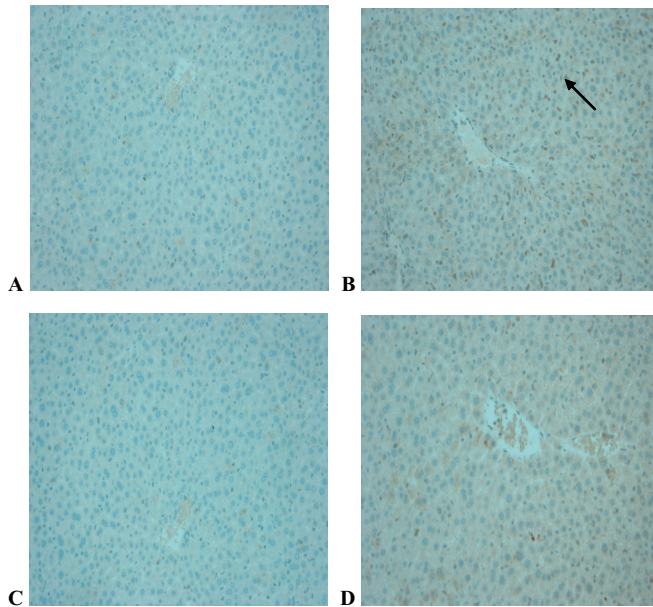
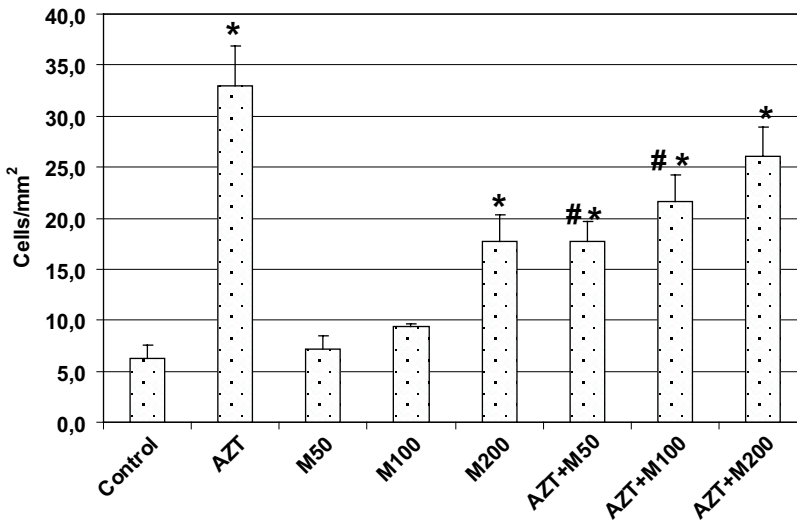


Fig. 3. Photomicrographs of mouse heart tissue stained immunohistochemically with caspase-3 antibody, magnification 200 times (A-D). Control (A) and mildronate at dose 50mg/kg (C) showed little or no caspase-3 immunostaining. Azidothymidine (B) significantly increased caspase-3 expression. Black arrow indicates positively immunostained cells. Mildronate coadministration with azidothymidine significantly decreased caspase-3 expression (D).

Peļu sirds audu fotomikrogrāfija, krāsojot imunohistoķīmiski ar kaspāzes-3 antivieli, palielinājums 200 reizes (A-D). Kontroles (A) un mildronāta (50 mg/kg, C) grupām nenovēroja būtisku kaspāzes-3 ekspresiju. Azidotimidīns (B) būtiski palielināja kaspāzes-3 ekspresiju. Melnā bultā norāda pozitīvi krāsotas šūnas. Mildronāts samazināja azidotimidīna radīto kaspāzes-3 ekspresiju (D).



*Fig. 4. The total number of caspase-3-positive cells per mm² in mouse liver tissue. Mildronate (M) at doses 50, 100, and 200 mg/kg, azidothymidine (AZT) at 50 mg/kg, and AZT+M were administered intraperitoneally in mice daily for two weeks. Saline was administered for control. Statistical significance: *P < 0.05 AZT vs. control group, #P < 0.05 vs. AZT group, unpaired t-test.*

*Kaspāzes-3 pozitīvo šūnu skaits (šūnas/mm²) peļu aknu audos. Mildronātu (M) devās 50, 100 un 200 mg/kg, azidotimidīnu (AZT) devā 50 mg/kg un AZT+M ievadīja pelēm intraperitoneāli divu nedēļu garumā. *P < 0.05 pret kontroles grupu, #P < 0.05 pret AZT, nesapārotais t-tests.*

Kopsavilkums

Pētījuma mērķis bija noskaidrot mildronāta protektīvos efektus anti-HIV preparāta azidotimidīna hepatotoksicitātes modelī pelēm. Šajā pētījumā vielas – azidotimidīnu (50 mg/kg), mildronātu (50, 100 un 200 mg/kg), un azidotimidīnu kopā ar mildronātu – ievadīja intraperitoneāli pelēm divu nedēļu laikā. Aknu audus pētīja morfoloģiski un imūnhistoķīmiski. Azidotimidīns, salīdzinot ar kontroles un mildronāta grupām, aknās izraisīja deģeneratīvas un iekaisuma reakcijas, kas izpaudās kā taukainā deģenerācija, iekaisums, fokāla hepatocītu tūska, apoptoze un nekroze. Mildronāts devā 50 mg/kg un daļēji devā 100 mg/kg novērsa šīs azidotimidīna radītās izmaiņas; savukārt, mildronāts devā 200 mg/kg neuzrādīja protektējošu efektu. Iegūtie rezultāti liecina par mildronāta hepatoprotektīvo efektu azidotimidīna toksicitātes modelī pelēm, kas iespējams realizējas pateicoties mildronāta mitohondriju funkciju regulējošajām īpašībām. Iegūtie dati norāda uz mildronāta mazo devu (ap 50 mg/kg) iespējamo klīnisko efektivitāti dažādu aknu patoloģiju gadījumos.

Oxidative Stress and Hepatocyte Hypertrophy in Chronic Hepatitis C

Oksidatīvais stress un hepatocītu hipertrofija hroniska C hepatīta gadījumā

Jurijs Markovs¹, Baiba Rozentāle², Gundega Knipše¹, Nadežda Bērziņa³

¹Faculty of Medicine, University of Latvia, Department of Anatomy and Histology,
Lielvārdes 68, Rīga, LV-1006

²Infectology Centre of Latvia, Linezera 3, Rīga, LV-1006

³Institute of Biology, University of Latvia, Miera 3, Salaspils, LV-2169

E-mail: george@pit.lv, lic@lic.gov.lv, gundega.knipse@lu.lv, nemo@pit.lv

The effects of oxidative stress on morphological changes in liver and red-blood-cell-reduced glutathione in patients with chronic hepatitis C were studied. We discovered that hepatocyte hypertrophy was induced when mitogenically stimulated hepatocytes in patients with chronic hepatitis C were exposed to oxidative injury. It is plausible that hepatocyte polyploidization is a protective mechanism against oxidative stress that occurs via controlled process throughout growth and allows more rapid repair. Decrease in the content of reduced glutathione seems to be involved in the progression of cirrhosis in hepatitis C.

Keywords: oxidative stress, reduced glutathione, hepatitis C, hepatocyte hypertrophy.

Introduction

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection is a major world-wide problem, because it frequently progresses to extensive fibrosis, liver failure, and hepatocellular carcinoma. The molecular mechanism of HCV pathogenesis remains unclear, but oxidative stress may play a role. Cell damage from oxidative stress occurs when reactive oxygen species (ROS), including superoxide anion and hydrogen peroxide, accumulate in excess of host defense mechanism. ROS inactivate mitochondrial enzymes, damage DNA, and lead to apoptosis or cellular hypertrophy. Under normal conditions ROS are cleared from the cell by the action of antioxidants, such as, for example, vitamins C, E, and A, and reduced glutathione (GSH). GSH has multiple functions and works synergistically with the other cellular antioxidants to neutralize ROS and thereby diminish oxidative stress. When GSH levels decrease, oxidative stress sets in, predisposing the organism to tissue and vascular injury (1).

Moreover, HCV infection is characterized by iron accumulation in the liver. The reactivity of hydrogen peroxide with iron closely connects oxidative stress and cellular iron metabolism. In humans, both iron deficiency and excess result in free radical damage.

Hepatocyte damage could result in the release of signals that stimulate activation of other cells, particularly those of the innate immune system, including

Kupffer cells. These cells contribute to the progression of liver injury by producing ROS and proinflammatory cytokines. At the same time, Kupffer cells also secrete cytoprotective cytokines, such as the transforming growth factor beta (TGF-beta) with powerful immunosuppressive functions. In its normal state the TGF-beta pathway restricts cell growth, differentiation, and death. In pathological conditions Kupffer cells are the main source of TGF-beta in liver and promote fibrogenesis. It is known that treatment of cells with GSH inhibited TGF-beta-induced collagen accumulation (2). TGF-beta concurrently induced cellular hypertrophy (3). Also, the majority of chronic HCV carriers have hepatomegaly.

The aim of the present study was to investigate the effect of TGF-beta expression on the hepatocyte hypertrophy in patients with hepatitis C virus-induced oxidative stress.

Materials and Methods

The study comprised 17 liver biopsies from patients with mild to severe chronic hepatitis C.

Venous blood was used for measurement of reduced glutathione according to Beutler's method (4).

Samples of liver obtained by biopsy were subjected to histological and immunohistochemical studies for the expressions of α -smooth muscle actin (α -SMA), transforming growth factor beta (TGF-beta), and CD 68. Pearl's Prussian Blue method for ferric iron was used to demonstrate the presence of inorganic iron.

To quantitatively assess changes in liver morphology, we examined the CD 68-stained liver sections and measured the cross-sectional surface area (CSSA) of Kupffer cells and hepatocyte diameter by using *ImagePro5*. Hepatocytes were categorized into three groups according to their diameter (1st group: 1–20 μ m; 2nd group: 20–30 μ m; 3rd group: 30–50 μ m). Hepatocytes of group 1 were considered to be diploid cells, group 2 – triploid cells, group 3 – tetraploid cells. The percentage of different hepatocyte groups was then calculated.

Results

TGF-beta could be immunolocalized in the majority of limiting plate hepatocytes, bile duct epithelial cells, hepatic stellate cells, Kupffer cells, and leukocytes in the portal tract. At the same time, complicated mosaic patterns consisting of TGF-beta-positive and negative intralobular hepatocytes were obtained. Periportal inflammation with disruption of limiting plate and piecemeal necrosis also was present.

There was a positive correlation among the area occupied by Kupffer cells, the level of polyploidization of hepatocytes, and the degree of TGF-beta 1 expression in the Kupffer cell cytoplasm. In the cases of mild hepatitis C, the CSAA of Kupffer cells was about 2% of the liver parenchyma, and diploid cells prevailed (75% of the total hepatocyte number). However, in patients with severe hepatitis C, the CSAA of Kupffer cells was 5%, and there was a marked increase in the number of triploid (up to 56%) and tetraploid (up to 4%) hepatocytes (Fig. 1). These changes were

accompanied by increased expression of TGF-beta 1 in the cytoplasm of Kupffer cells in comparison to patients with mild hepatitis C (Fig. 2).

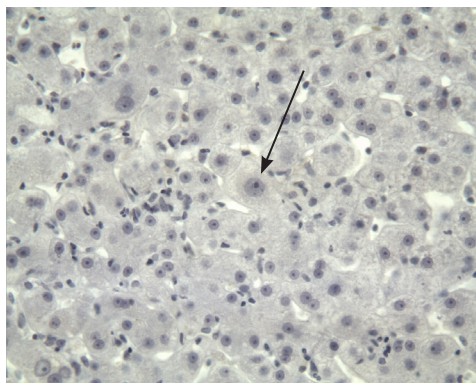


Fig. 1. Hypertrophied hepatocyte (arrow) in the liver of a patient with severe hepatitis C

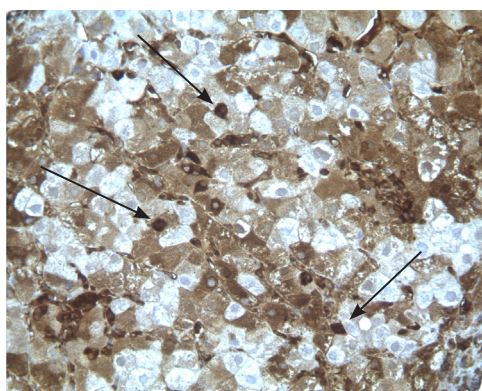


Fig. 2. Deeply stained TGF-beta-positive Kupffer cells (arrows) in the liver of a patient with severe hepatitis C

In the liver parenchyma of 5 patients, iron overload has been demonstrated by Pearl's staining, revealing large amount of iron in the cytoplasm of hepatocytes, surrounded by thin fibrous septa.

In patients with mild hepatitis, a few α -SMA-positive cells were admixed with the inflammatory infiltrates mostly along the intact limiting plate. These cells were also seen multifocally in a linear pattern along the sinusoids. The livers of patients with severe hepatitis revealed α -SMA-positive cells at the site of piecemeal necrosis and in fibrous septa (Fig. 3).

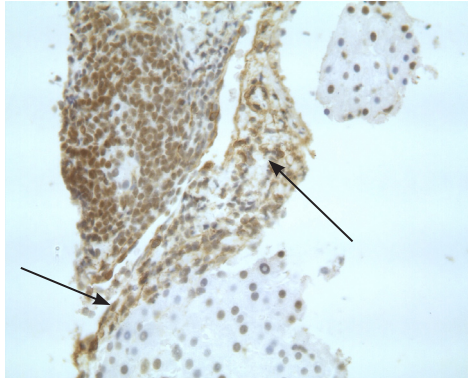


Fig. 3. SMA-positive cells (arrows) in an inflamed portal tract in the liver of a patient with severe hepatitis C

In 57% of patients with chronic hepatitis C, the mean value of GSH was below the normal range.

Discussion

Our studies demonstrated that decrease of GSH is more pronounced in patients with chronic hepatitis C. The increased oxidative stress may be explained by activation of chronic inflammation and inhibition of GSH production by liver cells (9). Because liver is a net exporter of GSH, HCV infection, damaging liver, may promote systemic oxidative stress by disrupting GSH export. Significant falls in GSH suggest scavenging action of GSH and its utilization with increased oxidative stress (8). Moreover, the excess iron deposits that have been observed in the liver samples could also promote generation of free radicals and fibrosis in these individuals (5).

We hypothesize that the initial hepatocellular oxidative event triggers molecular and cellular processes within hepatocytes that lead to production of factors that contribute to Kupffer cell activation and TGF-beta up-regulation. In this regard, it is interesting that bile duct epithelial cells, hepatic stellate cells, hepatocytes, and leukocytes in the portal tracts are also involved in the production of the TGF-beta.

It was shown earlier that in chronic hepatitis C the hepatocyte proliferation is suppressed parallel with the degree of inflammation, while DNA content becomes aneuploid (6). Our data propose that cell growth and proliferation are regulated, at least in part, by TGF-beta, and that the loss of the ability to proliferate can be compensated by an increase in the size of individual hepatocytes.

In chronic active hepatitis C, most intralobular α -SMA-positive cells represent stellate cells and myofibroblasts involved in intralobular fibrogenesis. The localization of activated TGF-beta-positive Kupffer cells in proximity to the stellate cells is of interest in the light of other studies, which have shown that TGF-beta is one of the most powerful profibrogenic mediators in liver and that it might stimulate proliferation and phenotypical transformation of hepatic stellate cells into myofibroblasts (7, 10).

On the whole, our data suggest that oxidative stress, as reflected in blood by an antioxidant marker GSH, stimulates hepatocyte hypertrophy and is a significant feature of HCV infection, which can facilitate progression of the disease.

References

- 1) Reed D. I., Farris M. W. Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacological Review* 1984, v. 36: 25–33.
- 2) Vayalil P. K., Olman M., Murphy-Ullrich I. E., Postlethwait E. M., Lin R. M. Glutathione restores collagen degradation in TGF-beta-treated fibroblasts by blocking plasminogen activator inhibitor-1 expression and activating plasminogen. *Am. J. Physiol. – Lung Cell. Mol. Physiol.* 2005, v. 289, No. 6: L937–L945.
- 3) Owens G. K., Geisterfer A. T., Yang Y. W., Komoriya A. Transforming growth factor-beta-induced growth inhibition and cellular hypertrophy in cultured vascular smooth muscle cells. *J. Cell Biol.* 1988, v. 107, No. 2: 771–780.
- 4) Beutler E., Duron O., Kelly B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 1963, v. 61, No. 5: 882–883.
- 5) Lafay S., Gueux E., Rayssiguier Y., Mazur A., Remesy C., Scalbert A. Caffeic acid inhibits oxidative stress and reduce hypercholesterolemia induced by iron overload in rats. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 2005, v. 75, No. 2: 119–125.
- 6) Weirling K., Szepesi A., Szentirmay Z., Schaff Z., Tulassay Z., Szalay F. Effect of hepatitis C virus on hepatocyte proliferation and DNA ploidy in patients with chronic hepatitis C. *Zeitschrift für Gastroenterologie* 2000, v. 38, No. 7: 553–558.
- 7) Lewindon P. J., Pereira T. N., Hoskins A. C., Bridle K. R., Williamson R. M., Shepherd R. W. The role of hepatic stellate cells and transforming growth factor in cystic fibrosis liver disease. *Am. J. Pathol.* 2002, v. 160, No. 5: 1705–1715.
- 8) Herken H., Uz E., Ozyurt H., Virit O., Akyol O. Evidence that the activities of erythrocyte-free radical scavenging enzymes and the products of lipid peroxidation are increased in different forms of schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 2001, v. 6, No. 1: 66–73.
- 9) Musallam L., Ethier C., Haddad P. S., Denizeau F., Bilodeau M. Resistance to Fas-induced apoptosis in hepatocytes: role of GSH depletion by cell isolation and culture. *Am. J. Physiol.* 2002, v. 283: G709–G718.
- 10) Xidakis C., Ljumovic D., Manousou P., Notas G., Valatas V., Kolios G., Kouroumalis E. Production of pro- and anti-fibrotic agents by rat Kupffer cells: the effect of octreotide. *Dig. Dis. Sci.* 2005, v. 50, No. 5: 935–941.

Kopsavilkums

Darbā pētīta oksidatīvā stresa ietekme uz morfoloģiskajām izmaiņām aknās un eritrocītu reducētā glutationa daudzumu pacientiem ar hronisku C hepatītu. Noskaidrojās, ka hepatocītu hipertrofija pacientiem ar hronisku C hepatītu tika izraisīta, kad mitoģenētiski stimulētie hepatocīti tika pakļauti brīvo skābekļa radikāļu iedarbībai. Iespējams, ka konstatētā hepatocītu poliploidizācija ir aknu parenhīmas adaptīva reakcija uz oksidatīvo stresu. Savukārt ir pamats domāt, ka aknu hemosideroze, kas stimulē oksidatīvā stresa veidošanos, veicina cirozes attīstību pacientiem ar hronisku C hepatītu.

Atslēgvārdi: oksidatīvais stress, reducētais glutations, C hepatīts, hepatocītu hipertrofija.

Gamma-aminosviestskābes receptora A ligandu efekti uz cilvēku dermas cilmes šūnu kultivēšanu *in vitro* *Effects of Gamma-Aminobutyric Acid Receptor A Ligands on Human Dermal Stem Cell Propagation in vitro*

**Kristīne Vrubļevska¹, Ruta Muceniece¹, Una Riekstiņa¹,
Inese Čakstiņa², Kaspars Jēkabsons¹, Jānis Ancāns²**

¹ Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001

² Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultāte, Kronvalda bulv. 4, Rīga, LV-1586,
E-pasts: k.vrublevska@gmail.com

Pēdējos gados ir iegūti pretrunīgi dati par neiromediatora γ -aminosviestskābes (GASS) A receptoru agonistu ietekmi uz šūnu proliferāciju un nervu šūnu atjaunošanos. Šo pretrunu dēļ katra no dažādiem audiem iegūtā šūnu līnija ir jāpārbauda eksperimentāli, lai noskaidrotu konkrētos apstākļos audzētu šūnu reakciju uz GASS A receptora ligandiem. Daudzas zāles, kā benzodiazepīni un pretkrampju vielas, ir GASS A receptora agonisti, kuriem ir atklāta gan inhibējoša, gan stimulējoša ietekme uz šūnu proliferāciju un cilmes šūnu plasticitāti, kā arī uz jaunu nervu šūnu veidošanos peļu smadzenēs. Iepriekšējos pētījumos autori atklājuši bērzu tāss aktīvās vielas betulīna spēju saistīties pie GASS A receptora un izraisīt pretkrampju darbību pelēm, un tas ļauj arī betulīnu uzskatīt par GASS A receptora ligandu.

Šī pētījuma mērķis ir salīdzināt GASS, klīnikā plaši lietotā benzodiazepīna diazepāma un potenciālo jauno zāļu – betulīna un betulīnskābes – citotoksiskos efektus uz cilvēku dermas cilmes šūnām. Iegūtie rezultāti liecina, ka GASS un diazepāms 0,1–10 mM koncentrācijā uzrāda citotoksicitāti 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolbromīda (MTT) testā, bet betulīns un betulīnskābe neietekmē šūnu proliferāciju un nav citotoksiski. Atklāts, ka betulīns un betulīnskābe 10 mM koncentrācijā stimulē fibroblastu augšanas faktora 2 sekrēciju.

Atslēgvārdi: γ -aminosviestskābes receptoru ligandi, diazepāms, betulīns, betulīnskābe, cilmes šūnas.

Ievads

Nediferencētas šūnas, kas atrodas pieauguša cilvēka audos vai orgānos, sauc par somatiskajām cilmes šūnām (arī par pieaugušo cilmes šūnām). Tām piemīt spēja pašatjaunoties *in vivo* un veidot dažādas diferencētu meitasšūnu populācijas, kuras nodrošina audu un orgānu homeostāzi visas dzīves garumā (1). Somatisko cilmes šūnu izcelsme nav zināma, kaut arī ir izvirzīta hipotēze, ka tās ir dīgļlapu šūnas, kas varētu būt deponējušās agrīnās gastrulācijas periodā (2). Cilmes šūnas audos un orgānos saglabājas tā sauktajās nišās, kur to dalīšanās un diferenciāciju regulē ārējo signālu iedarbība (3). Nervu šūnu pašatjaunošanās pētījumos atklāta dažādu endogēno aģentu loma cilmes šūnu diferenciācijā par neironiem, glijas šūnām un astrocītiem. Tomēr literatūras datu analīze parāda, ka iegūtie rezultāti par vienu un tā paša endogēnā faktora lomu audu reģenerācijā ir pretrunīgi, piemēram, par

γ -aminosviestskābes (GASS) lomu šūnu proliferācijā. Jau 1995. gadā aprakstīta GASS citotoksicitāte uz galvas smadzeņu garozaš priekšteču šūnām (*progenitors*) (4, 5), bet citu autoru darbos novērota GASS neuroģenēzes stimulācija (6).

GASS ir viens no galvenajiem neurotransmiteriem smadzenēs, kas darbojas uz vairākiem GASS receptoru apakštipiem – A, B un C, no kuriem GASS A receptors ir daudzu zāļu, tai skaitā benzodiazepīnu un pretkrampju vielu, farmakoloģiskās darbības ierosināšanas vieta šūnu membrānā (7). Stimulējot GASS A receptoru, šūnā ieplūst hlora joni un notiek depolarizācija, tādēļ GASS A receptora agonisti uzrāda smadzeņu darbību kavējošu efektu (7). Tomēr GASS ietekmi uz šūnu proliferāciju un dzīvildzi skaidro ar citu mehānismu – ar spēju modulēt intracelulārā kalcija jonu koncentrāciju (4). GASS A receptoru aktivācija ierosina tonisku mitogēn-aktivēto proteīnkināžu (MAPK) kaskādes inhibīciju un, atverot no voltāžas atkarīgos kalcija kanālus, paaugstina intracelulāro kalcija jonu koncentrāciju, kas ierosina šūnu apoptozi (4). Pretrunīgos rezultātus par GASS A receptoru agonistu ietekmi uz šūnu proliferāciju skaidro ar dažādu kalcija jonu koncentrāciju intracelulārajās kalcija krātuvēs (7). Piemēram, neironiem sarkoplazmatiskā tīklojuma krātuvēs ir zems kalcija jonu līmenis, tāpēc tie ir ļoti jutīgi pret GASS A receptoru agonistiem un attiecīgi kalcija jonu koncentrācijas paaugstināšanos, bet astrocītiem sarkoplazmatiskajās krātuvēs ir augsts kalcija jonu līmenis, un tie ir mazāk jutīgi pret kalcija jonu koncentrācijas svārstībām (5, 8).

Šajā pētījumā salīdzināts GASS, diazepāma un augu triterpēnu betulīna un betulīnskābes citotoksiskais efekts un ietekme uz cilmes šūnu fibroblastu augšanas faktora 2 (FGF-2) sekrēciju. Iepriekšējos pētījumos atklāta bērzu tāss aktīvās vielas betulīna spēja saistīties pie GASS A receptora un uzrādīt pretkrampju iedarbību pelēm (9). Betulīns un betulīnskābe ir citotoksiskas vielas ar īpaši izteiktu citotoksicitāti pret vēža šūnām, bet *in vivo* nav toksiski pat lielās devās (pelēm 0,5 g/kg) un darbojas kā antioksidanti un pretiekaisuma vielas (10). Betulīnam ir atklāta arī pretvīrusu aktivitāte un HIV-1 reversās transkriptāzes inhibīcijas spēja (10). Tomēr betulīnam ķīmiski radniecīgā betulīnskābe nesaistījās pie GASS A receptoriem, tā apliecinot pat nelielu struktūras atšķirību nozīmi (9). Diazepāma endotēlijšūnu proliferācijas inhibīcijas spēja ir aprakstīta 2005. gadā (11), bet 2008. gadā publicēti dati par diazepāma citotoksisko efektu uz SNU-C4 kolorektālā audzēja un MDA-MB-231 krūts dziedzera adenokarcinomas šūnām (12). Tādējādi šim pētījumam izvēlētas vielas vieno to spēja saistīties ar GASS A receptoru un pretvēža darbība *in vitro*.

Materiāli un metodes

Dermas šūnu izolēšana un audzēšana *in vitro*

Dermas šūnas no cilvēka ādas iegūtas pēc iepriekš aprakstītās metodes (3). Pēc apstrādes ar dispāzi (*Roche*) epiderma tika atdalīta no dermas, un tālāk sasmalcinātie dermas gabaliņi tika enzimatiski sašķelti ar kolagenāzi IV (*Sigma*). Izolētās dermas šūnas audzētas barotnē DMEM/F12 (attiecībā 3:1) ar 10% teļa serumu (*foetal bovine serum, FBS, Invitrogen*) un penicilīnu, streptomīnu (100 u/ml un 100 µg/ml; *Invitrogen*) sterilos vienreizlietojamās šūnu kultūru traukos (*Costar*) 37 °C temperatūrā inkubatorā ar 90% mitruma un 5% CO₂ atmosfērā. Pēc 100% konfluences sasniegšanas šūnas izmantotas eksperimentiem.

Šūnu skaita noteikšana

Šūnas tripsinizētas ar 0,25% tripsīna/EDTA maisījumu (*Invitrogen*), centrifugētas, resuspendētas 10 ml šūnu barotnes, un saskaitītas dzīvās šūnas, skatoties mikroskopā, ar hematocitometru. Dzīvo un mirušo šūnu skaita noteikšanai izmantota tripānzilā krāsviela, kas iekrāso mirušas šūnas.

MTT citotoksicitātes tests

3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolbromīda (MTT) tests ir izplatīta metode citotoksicitātes pētījumiem (13). MTT no *Sigma/Aldrich* izšķīdināts Hanka sāļu buferī koncentrācijā 5 mg/ml. 96 lauciņu platē katrā lauciņā izsētas 5000 šūnas un inkubētas šūnu inkubatorā 24 h. Tad pievienotas pētāmās vielas dažādā koncentrācijā un atstātas augt šūnu inkubatorā. Pēc trīs dienām pievienots MTT reaģents 10 μ l/100 μ l, un šūnas inkubētas vēl trīs stundas, tad pievienoti 100 μ l dimetilsulfoksīda (DMSO), 1 h istabas temperatūrā plate šūpota uz kratītāja, lai radušās formazāna nogulsnes pilnīgi izšķīstu DMSO. Formazāna šķīduma DMSO sarkanās krāsas intensitāte mērīta ar mikroplašu lasītāju (*Elx808 BioTek Instruments microplate reader*) 550 nm viļņu garumā.

BrdU šūnu proliferācijas tests

Bromodeoksiuridīna (BrdU) tests tika veikts pēc reaģentu komplekta ražotāja instrukcijas (*Labeling and Detection kit III from Roche Molecular Biochemicals, France*). BrdU pievienots 10 μ M koncentrācijā šūnu barotnei, un šūnas audzētas trīs dienas šūnu inkubatorā. Tad šūnas fiksētas un apstrādātas ar BrdU antivielām un reaģentiem, kas veidoja krāsu ar antivielām. Krāsas intensitāte (OD) mērīta ar mikroplašu lasītāju (*Elx808 BioTek Instruments microplate reader*) 405 nm viļņu garumā. BrdU iekļaušanās jaunradušos šūnu DNS izvērtēta, salīdzinot ar kontroles šūnām, kuras netika stimulētas ar pētāmajām vielām.

FGF-2 sekrēcijas noteikšana

Katrā 96 lauciņu plates lauciņā iesēti 5000 šūnu. Šūnām pievienota barotne ar dažādu pētāmo vielu koncentrāciju un atbilstošu šķīdinātāja DMSO koncentrāciju.

Pēc trīs dienām plates centrifugētas, un 100 μ l barotnes ar attiecīgām vielu piedevām pārnestas uz *MaxiSorb (Nunc, Dānija)* 96 lauciņu platēm, kuras dienu iepriekš bija pārklātas ar antivielām pret cilvēku FGF-2. FGF-2 koncentrācijas mērījumi veikti atbilstoši reaģentu komplekta ražotāja instrukcijām (*R&D, DuoSet ELISA Development System*, kita kataloga numurs DY233). Rezultāts aprēķināts pēc standartlīknes, kas iegūta pēc šīs pašas metodes, mērot noteiktas koncentrācijas FGF-2 optisko blīvumu (OD).

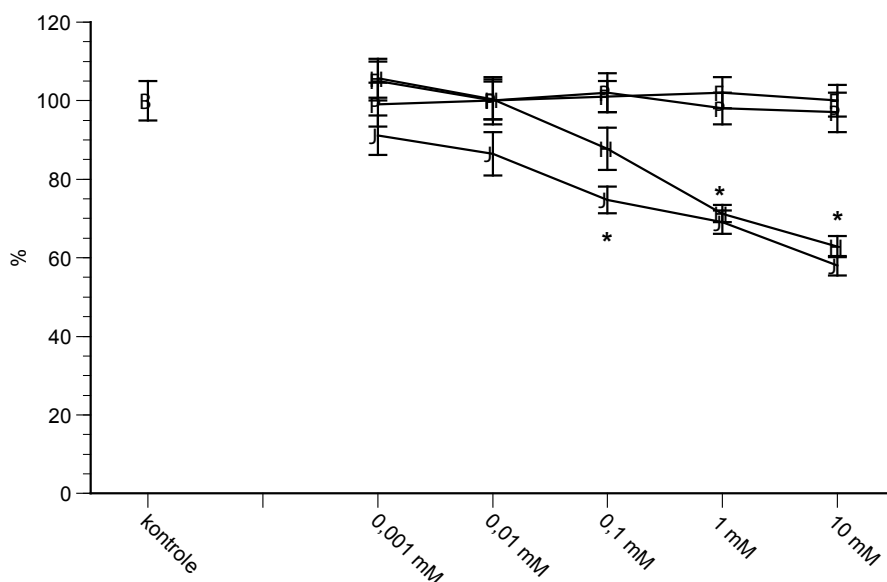
Rezultāti

Šūnu skaita dubultošanās laiks

Šūnu skaita noteikšana dažādos augšanas laika intervālos parādīja, ka cilvēka dermas cilmes šūnas dalās lēni. Šūnu skaita dubultošanās tika novērota pēc apmēram 7–8 dienām.

Pētāmo vielu citotoksicitāte

Dzeltenas krāsas MTT šūnu mitohondrijos reducējas līdz sarkanai krāsai formazānam. Tā kā šī reakcija notiek tikai dzīvās šūnās, kad mitohondriju reduktāzes ir aktīvas, tad šajā testā iegūtā krāsas intensitāte (OD) atspoguļo pārbaudīto vielu efektu uz šūnu dzīvotspēju. Kā redzams 1. attēlā, GASS, sākot no 0,1 mM koncentrācijas, bet diazepāms no 1 mM koncentrācijas statistiski ticami samazina dzīvo šūnu skaitu salīdzinājumā ar kontroli, kas pieņemta par 100%. Betulīns un betulīnskābe neuzrāda citotoksisku efektu, jo formazāna krāsas intensitāte šūnās, kuras bija audzētas šo triterpēnu klātbūtnē, neatšķiras no kontroles.



1. attēls. GASS un diazepāma citotoksiskie efekti uz cilvēka dermas cilmes šūnām MTT testā

Kontrolē ar attiecīgo šķīdinātāju – kvadrāti; GASS – apli; diazepāms – trīsstūri; betulīns – trīsstūri uz leju; betulīnskābe – rombi. Kontrolē šūnu lauciņos krāsas intensitāte (OD) pieņemta par 100%. Betulīns un betulīnskābe šķīdināti DMSO; diazepāms 0,05% TWIN-20 ūdens šķīdumā. GASS šķīdinātājs ir ūdens.

Esperimenti atkārtoti trīs reizes ar 3–4 paralēliem mērījumiem.

* $p \leq 0,05$ pēc Stjūdenta t-testa.

Figure 1. Cytotoxic effects of GABA and diazepam on human dermal stem cells in MTT assay

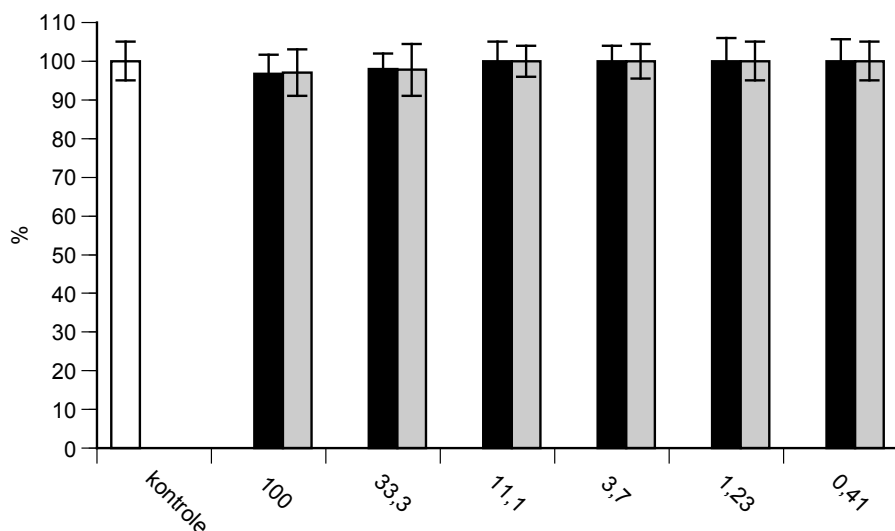
Control – squares; GABA – circles; diazepam – triangles; betulin – triangles down; betulinic acid – rhombs. OD in control cell wells is assumed to be 100%. Betulin and betulinic acid are dissolved in DMSO; diazepam in 0.05% TWIN-20 solution in water. GABA is dissolved in water.

Experiments were repeated 3 times with 3–4 parallel measurements.

* $p \leq 0,05$ according to the Student t-test.

Betulīna un betulīnskābes ietekme uz šūnu proliferāciju

Lai papildus pārlicinātos par betulīna un betulīnskābes ietekmi uz cilmes šūnu proliferāciju, veikti eksperimenti ar BrdU inkorporācijas metodi jaunradušos šūnu kodolos. Betulīns un betulīnskābe nešķīst ūdenī, tāpēc kā šķīdinātājs izmantots 100% DMSO. Atšķaidot vielas, atšķaidījās arī DMSO koncentrācija, kas katrā konkrētā gadījumā ir pieņemta par kontroli un parādīta kā 100%. Betulīna un betulīnskābes efekti 2. attēlā ir parādīti pēc atbilstošas DMSO kontroles rezultātu atņemšanas. Kā redzams 2. attēlā, betulīna un betulīnskābes ietekme uz šūnu proliferāciju netika novērota pat palielinot koncentrāciju un izvēloties specifisku proliferācijas testu.



2. attēls. **Betulīna (melnie stabiņi) un betulīnskābes (pelēkie stabiņi) μM efekti uz cilvēku dermas cilmes šūnu proliferāciju BrdU testā**

Kontrolē 100% – vielu atšķaidījumam atbilstoša DMSO koncentrācija šūnu barotnē (baltais stabiņš).

Eksperimenti atkārtoti trīs reizes ar 3–4 paralēliem mērījumiem.

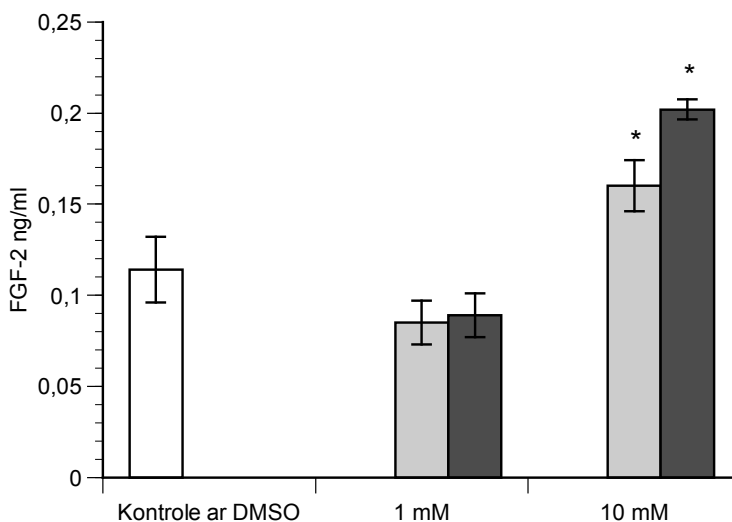
Figure 2. Effects of betulin (black bars) and betulinic acid (gray bars) on human dermal stem cell proliferation in BrdU assay

Control 100% is concentration of DMSO in the cell growth medium corresponding to the dilution of substances (white bar).

Experiments were repeated 3 times with 3–4 parallel measurements.

FGF-2 sekrēcijas stimulēšana

3. attēlā parādīta betulīna un betulīnskābes spēja pastiprināt cilvēku dermas cilmes šūnu FGF-2 sekrēciju. Statistiski ticams efekts tika sasniegts 10 mM koncentrācijā. Betulīnskābe uzrādīja tendenci iedarboties spēcīgāk par betulīnu. GASS un diazepāms neizmainīja FGF-2 sekrēcijas līmeni.



3. attēls. Betulīna (pelēkie stabiņi) un betulīnskābes (melnie stabiņi) efekti uz FGF-2 sekrēciju

Kontrole (barotne ar 10% DMSO) – baltais stabiņš. FGF-2 sekrēcija rēķināta uz 5000 šūnām 100 μ l tilpumā.

Esperimenti atkārtoti trīs reizes ar 3–4 paralēliem mērījumiem.

* $p \leq 0,05$ pēc Stjūdenta t-testa.

Figure 3. Effects of betulin (gray bars) and betulinic acid (black bars) on secretion of FGF-2

Control (10% DMSO) is the white bar. FGF-2 secretion is calculated per 5000 cells in volume of 100 μ l. Experiments were repeated 3 times with 3–4 parallel measurements.

* $p \leq 0.05$ according to the Student t-test.

Diskusija

Iepriekšējos pētījumos (9) noskaidrots, ka GASS saistās pie GASS saistīšanās vietas uz GASS A receptora ar nM afinitāti – inhibīcijas konstante (K_i) bija 10–14 nM. Diazepāmam ir augsta afinitāte pret benzodiazepīnu saistīšanās vietu uz GASS A receptora (K_i aptuveni 2–4 nM), bet zema pret GASS saistīšanās vietu – $19 \pm 4 \mu$ M. Betulīnskābe nesaistījās pie GASS A receptora, bet betulīns saistījās tikai pie GASS saistīšanās vietas ar samērā zemu afinitāti ($64 \pm 5 \mu$ M), kas tomēr bija pietiekama, lai betulīns *in vivo* uzrādītu pretkrampju iedarbību pelēm. Šajā pētījumā iegūtie rezultāti liek apšaubīt novērotās betulīna un betulīnskābes FGF-2 sekrēcijas stimulācijas saistību ar afinitāti pret GASS A receptoru. Pirmkārt, abi augu triterpēni darbojās vienādi, kaut gan tikai betulīns saistījās pie GASS A receptora. Otrkārt, tiem nebija citotoksiska efekta uz cilmes šūnām salīdzinājumā ar klasiskiem GASS A receptora ligandiem – GASS un diazepāmu. Šī pētījuma autori pirmie atklāja betulīna ar GASS A receptoru saistīto pretkrampju darbību un betulīna saistīšanos pie melanokortīnu receptoru pirmā apakštipa (14), bet jāatzīst, ka joprojām nav zināms, uz kādiem vēl šūnas membrānas receptoriem betulīns varētu iedarboties. Betulīnskābe ir pētīta *in*

in vitro, un atklāts, ka tā nesaistās pie klasisko neirotransmiteru receptoriem, vienīgi uzrāda vāju afinitāti pret acetilholīna M receptoriem (15). Betulīns un betulīnskābe ir citotoksiskas vielas vēža šūnām, īpaši melanomas un leukēmijas gadījumos, bet citos testos neraksturīgi citotoksiskām vielām tiem piemīt protektīvas un antioksidantu īpašības (10, 16). Betulīns un betulīnskābe pasargā hepatocītus no toksiskām vielām un audus no radiācijas ietekmes, kā arī samazina iekaisumu (10). Tomēr klīnikā lielākās cerības vieš betulīnskābes derivātu anti-HIV darbība. 2007. gadā klīnikā ar labām sekmēm tika pārbaudīts sintētisks savienojums bevirimāts (3-O-(3',3'-dimetilsukcinil)-betulīnskābe) (17, 18). Atklājums, ka lielā koncentrācijā betulīns un betulīnskābe pastiprina FGF-2 sekrēciju, varētu liecināt par cilmes šūnu proliferācijas stimulāciju, ja tā būtu vajadzīga audu reģenerācijai, jo FGF-2 loma brūču dziedēšanā ir zināma, un FGF-2 samazina pat sirds infarkta zonas (19). Tas, ka bija vajadzīga triterpēnu 10 mM koncentrācija, lai parādītos FGF-2 sekrēcijas stimulācijas efekts, ir izskaidrojams ar cilmes šūnās sabalansēto autokrīno / parakrīno FGF-2 regulāciju. Pateicoties atgriezeniskai saitei, cilmes šūnas uztur konstantu FGF-2 koncentrāciju apkārtējā vidē (20), kura ir vajadzīga, lai cilmes šūnas pašatjaunotos, diferencētos un migrētu uz bojājumu vietu. Tomēr nav izslēgta arī GASS A receptora līdzdalība vēlāku signālceļu kaskādēs, jo FGF-2 jutīgās nervu šūnu prekursoru šūnas ekspresē GASS A receptoru un hlora jonu kanālus *in vitro* (21), un diazepāms stimulē FGF-2 ekspresiju smadzeņu struktūrās hipokampā un striatumā *in vivo* pelēm (22).

Secinājumi

GASS un diazepāms ir citotoksiski cilvēku dermas cilmes šūnām *in vitro*. Betulīns un betulīnskābe nav citotoksiski, neietekmē cilmes šūnu proliferāciju, bet 10 mM koncentrācijā stimulē šūnu FGF-2 sekrēciju.

Pateicības

Paldies par atbalstu ERAF projektam VPD/ERAF/CFLA/05/APK/2.5.2./000072/036, ESF grantam doktorantiem un jaunajiem zinātniekiem, LU pētnieciskajiem projektiem ZP-131 un ZP-47.

Literatūra

1. Hochedlinger K., Jaenisch R. Nuclear reprogramming and pluripotency. *Nature* 2006, 441, p. 1061–1067.
2. Ratajczak M. Z., Machalinski B., Wojakowski W., Ratajczak J., Kucia M. A hypothesis for an embryonic origin of pluripotent Oct-4(+) stem cells in adult bone marrow and other tissues. *Leukemia* 2007, 21, p. 860–867.
3. Toma J. G., McKenzie I. A., Bagli D., Millera F. D. Isolation and Characterization of Multipotent Skin-Derived Precursors from Human Skin. *Stem Cells* 2005, 23, p. 727–737.
4. Nguyen L., Malgrange B., Breuskin I., Bettendorff L., Moonen G., Belachew S., Rigo J. M. Autocrine/paracrine activation of the GABA(A) receptor inhibits the proliferation of neurogenic polysialylated neural cell adhesion molecule-positive (PSA-NCAM+) precursor cells from postnatal striatum. *J. Neurosci.* 2003, 23, p. 3278–3294.

5. LoTurco J. J., Owens D. F., Heath M. J. S., Davis M. B. E., Kriegstein A. R. GABA and glutamate depolarize cortical progenitor cells and inhibit DNA synthesis. *Neuron*, 1995, 15, p. 287–1298.
6. Yoneyama M., Fukui M., Nakamichi N., Kitayama T., Taniura H., Yoneda Y. Activation of GABA_A receptors facilitates astroglial differentiation induced by ciliary neurotrophic factor in neural progenitors isolated from fetal rat brain. *J. Neurochem.* 2007, 100, p. 1667–1679.
7. Holtkamp M., Meierkord H. Biomedicine & diseases: Review. Anticonvulsant, antiepileptogenic, and antiictogenic pharmacostategies. *Cell Mol. Life Sci.* 2000, 64, p. 2023–2041.
8. Kahlert S., Zundorf G., Reiser G. Glutamate-mediated influx of extracellular Ca²⁺ is coupled with reactive oxygen species generation in cultured hippocampal neurons but not in astrocytes. *J. Neurosci. Res.* 2005, 79, p. 262–271.
9. Muceniece R., Saleniece K., Rumaks J., Krigere L., Dzirkale Z., Mezhapuke R., Zharkova O., Klusa V. Betulin binds to gamma-aminobutyric acid receptors and exerts anticonvulsant action in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2008 Jun 3. [E-publication ahead of print].
10. Yogeewari P., Sriram D. Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties. *Curr. Med. Chem.* 2005, 12, p. 657–666.
11. Misztal-Dethloff B., Stepień H., Komorowski J. Effect of diazepam and chlorpromazine on proliferative activity and vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion from cultured endothelial HECa10 cells in vitro. *Pharmacol. Rep.* 2005, 57, p. 670–674.
12. Kim D. H., Lee J. T., Lee I. K., Ha J. H. Comparative anticancer effects of flavonoids and diazepam in cultured cancer cells. *Biol. Pharm. Bull.* 2008, 31, p. 255–259.
13. Mosmann T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J. Immunol. Meth.* 1983, 65, p. 55–63.
14. Muceniece R., Saleniece K., Riekstina U., Krigere L., Tirzitis G., Ancans J. Betulin binds to melanocortin receptors and antagonizes alpha-melanocyte stimulating hormone induced cAMP generation in mouse melanoma cells. *Cell Biochem. Funct.* 2007, 25, p. 591–596.
15. Zhu M., Phillipson J. D., Greengrass P. M., Bowery N. G. Chemical and biological investigation of the root bark of *Clerodendrum mandarinorum*. *Planta Med.* 1996, 62, p. 393–396.
16. Hata K., Hori K., Takahashi S. Differentiation- and apoptosis-inducing activities by pentacyclic triterpenes on a mouse melanoma cell line. *J. Nat. Prod.* 2002, 65, p. 645–648.
17. Martin D. E., Blum R., Doto J., Galbraith H., Ballow C. Multiple-dose pharmacokinetics and safety of bevirimat, a novel inhibitor of HIV maturation, in healthy volunteers. *Clin. Pharmacokinet.* 2007, 46, p. 589–598.
18. Akihisa T., Ogihara J., Kato J., Yasukawa K., Ukiya M., Yamanouchi S., Oishi K. Inhibitory effects of triterpenoids and sterols on human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase. *Lipids* 2001, 36, p. 507–512.
19. Horrigan M. C. G., MacIsaac A. I., Nicolini F. A., Vince G., Lee Ph. B. S., Ellis S. G., Topol E. J. Reduction in Myocardial Infarct Size by Basic Fibroblast Growth Factor after Temporary Coronary Occlusion in a Canine Model. *Circulation* 1996, 94, p. 1927–1933.
20. Dvorak P., Hampl A. Basic fibroblast growth factor and its receptors in human embryonic stem cells. *Folia histochemica et cytobiologica*, 2005, 43, p. 203–208.

21. Ma W., Liu Q. Y., Maric D., Sathanoori R., Chang Y. H., Barker J. L. Basic FGF-responsive telencephalic precursor cells express functional GABA(A) receptor/Cl⁻channels in vitro. *J. Neurobiol.* 1998, 35, p. 277–286.
22. Gómez-Pinilla F., Dao L., Choi J., Ryba E. A. Diazepam induces FGF-2 mRNA in the hippocampus and striatum. *Brain Res. Bull.* 2000, 53, p. 283–289.

Summary

In recent years, contradictory data are published on the influence of ligands of γ -aminobutyric acid (GABA) receptor A on cell proliferation and renewal of nervous system cells. Therefore, each cell line isolated from different tissues should be tested experimentally to clarify the cell reaction on GABA A receptor ligands in appropriate experimental conditions. Many well known medicines, including benzodiazepines and anticonvulsants, are agonists of the GABA A receptor known to inhibit or stimulate cell proliferation, plasticity of stem cells, and renewal of neurons in mice brain.

In our previous study, we demonstrated binding of the birch-bark active substance betulin to the GABA A receptor, and we first showed its anticonvulsant effect in mice – the result that allows to consider betulin to be GABA A receptor agonist.

The goal of this study was to compare the effects of GABA and diazepam (benzodiazepine widely used in clinics) with the effects of new potential drugs – betulin and betulinic acid – on human dermal stem cell cytotoxicity. The obtained results show the cytotoxic effects of GABA and diazepam at concentrations of 0.1–10 mM in (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. In contrast, betulin and betulinic acid were not cytotoxic and did not affect the cell proliferation. We discovered that, at a concentration of 10 mM, betulin and betulinic acid stimulated the fibroblast growth factor 2 secretion.

Keywords: *γ -aminobutyric acid receptor A ligands, diazepam, betulin, betulinic acid, stem cells.*

Latvijas pirmskolas un jaunākā skolas vecuma bērnu barojuma pakāpes izmaiņas 20. gadsimtā *The Secular Changes of Nutritional Level in Children of Latvia Aged 5–12 in the 20th Century*

Helēna Kārklīņa¹, Džanna Krūmiņa¹, Gundega Knipšce¹, Inese Kokare²,
Jānis Valeinis³

¹Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1, Rīga, LV-1001

²Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Pilsoņu iela 13, Rīga, LV-1002

³Latvijas Universitātes Fizikas un matemātikas fakultāte, Zeļļu iela 8, Rīga, LV-1002
E-pasts: lienakarklina@inbox.lv

Vairumā Eiropas valstu pēdējo 15 gadu laikā novērota to bērnu skaita palielināšanās, kam ir aptaukošanās. Pētījuma mērķis ir noskaidrot Latvijas pirmskolas un jaunākā skolas vecuma bērnu barojuma pakāpes izmaiņas 20. gadsimtā un salīdzināt ar situāciju citās Eiropas zemēs. Darbā izmantoti 20. gadsimtā Latvijā veikto nozīmīgāko augšanas pētījumu rezultāti, kuri papildināti ar ķermeņa masas indeksa (ĶMI) aprēķiniem. Analizējot garuma, ķermeņa masas un ĶMI vērtību izmaiņas, konstatēts, ka Latvijas bērnu populācijā ĶMI vērtības 20. gadsimtā gan zēniem, gan meitenēm kopumā ir saglabājušās nemainīgas ar tendenci mazināties galvenokārt ķermeņa masas samazināšanās dēļ. Autori secina, ka 20. gadsimta beigās Latvijas bērnu populācijā kopumā aptaukošanās nav novērojama.

Atslēgvārdi: garums, ķermeņa masa, fiziskā attīstība, ĶMI, gadsimta izmaiņas, pirmskolas un jaunākā skolas vecuma bērni.

Ievads

Mūsdienās aktualitāte ir bērnu aptaukošanās, kas ļoti strauji izplatās, un, pēc Pasaules Veselības organizācijas (PVO) datiem, tiek prognozēts, ka 2010. gadā desmitā daļa bērnu cietīs no šīs problēmas.

Nav jēdziena “iedzimta aptaukošanās”. Bērniem pēc dzimšanas ir normāls tauku šūnu skaits pat tad, ja vecāki cieš no aptaukošanās. Bērnu adipozitātei ir savas īpatnības: tā visbiežāk sākas pirms 4 g. v. vai periodā no 7 līdz 11 g. v.; tauku šūnu palielināšanās maksimums novērojams divas reizes – agrīnā bērnībā un pusaudža vecumā. Pēc pubertātes palielinās tikai tauku šūnu masa (lielums), bet ne to daudzums (1).

Liekais svars un adipozitāte nav tikai kosmētisks defekts. Par to liecina tādu slimību daudzuma pieaugums, kuru izcelsme tieši saistāma ar aptaukošanos, piemēram,

- kardiovaskulārās slimības (galvenokārt sirds slimības un insulti) – pašlaik Eiropā katru gadu tās ir cēlonis 42% visu nāves gadījumu;

- cukura diabēts, kas drīz kļūs par globālu epidēmiju (Pasaules Veselības organizācija prognozē, ka nākamajos 10 gados kā nāves cēlonis tas palielināsies par vairāk nekā 50%);
- balsta un kustību aparāta slimības, muguras sāpes, kas adipoziem cilvēkiem biežāk komplicējas ar osteoartrītu;
- daži audzēju veidi: endometrija, krūts un resnās zarnas vēzis;
- psiholoģiskas problēmas;
- paaugstināts invaliditātes risks.

Adipozitāte bērniņā saistīta ar paaugstinātu invaliditātes un priekšlaicīgas nāves risku pieaugušo vecumā, tādēļ aptaukošanās problēmas risināšana ir nozīmīga ne tikai sabiedrības veselības izpratnē, bet arī palīdzēs samazināt veselības aprūpes izmaksas un stabilizēt ekonomiku, veicinot katra cilvēka pilnvērtīgu dzīvi. Pēc Berlīnes Roberta Koha institūta pētījuma datiem, Vācijā pēdējo 15 gadu laikā adipozu bērnu skaits ir divkārtšojies, bez tam vairāk nekā puse bērnu ar lieko svaru un aptaukošanos kļūst par adipoziem un slimiem pieaugušajiem. Arī Latvijas iedzīvotāju veselības stāvoklis ir pasliktinājies. Pēc žurnāla "Healthcare" veiktajiem pētījumiem par iedzīvotāju veselību 35 Eiropas valstīs apzināts, ka Latvija atrodas 34. vietā. Pirmajā vietā nāves cēlonis ir asinsrites slimības (53,6%), turklāt palielinās gados jaunu (līdz 24 g. v.) cilvēku skaits, kas miruši no šīm slimībām (pēc Latvijas Centrālās statistikas pārvaldes datiem, 2000. gadā bija 28 šādi gadījumi, bet 2006. gadā – 37).

Eiropas Savienībā katru gadu par 400 000 pieaug to bērnu skaits, kam ir aptaukošanās. Viņiem parādās slimības, kas tipiskas pieaugušajiem, piemēram, jau 5 g. v. bērniem ar palielinātu ķermeņa masu 20% gadījumu novērojamas aterosklerozes iezīmes. Bez tam bērni ar aptaukošanos līdzīgi kā pieaugušie slimo ar II tipa diabētu, metabolisko sindromu, paaugstinātu asinsspiedienu, bronhiālo astmu, aknu slimībām, cieš no miega traucējumiem un zema pašnovērtējuma, kā arī depresijas. Nereti tiem novērojams pāragrs dzimumnobriedums.

Daudzās valstīs šajā jomā ir izdarīti pētījumi, taču Latvijā pēdējo 10 gadu laikā izvērstu statistikas datu nav.

Materials un metode

Darbā izmantoti nozīmīgāko Latvijā veikto pētījumu dati par bērnu fizisko attīstību:

1. K. Ādamsona 1927. gadā publicētie dati par Rīgas pilsētas 1315 zēniem un 1333 meitenēm;
2. L. Krastiņas-Jērumas 1936. gadā publicētie dati par Rīgas pilsētas 299 zēniem un 563 meitenēm;
3. K. Seglenieces 1962. gada pētījuma dati;
4. R. Milleres un K. Seglenieces 1977. gadā publicētie dati;
5. Dž. Krūmiņas, I. Kokares, I. Čivčas †, J. Vētras un U. Teibes 1998./1999. gada pētījuma dati.

Lai minēto autoru datus varētu salīdzināt pēc vispārpieņemtiem antropometriskiem parametriem (2, 5), aprēķināts ĶMI visu pirmskara autoru pētījumos, jo šī laika publikācijās autori aprēķinājuši nevis ĶMI, bet Rorera (*Rohrer 'a*) indeksu, t. i.,

$$\frac{\text{masa (kg)}}{\text{garums (cm)}} 3 \times 100$$

Arī mūsdienās, pēc dažu autoru domām (2), matemātiski pareizāk būtu analizēt ķermeņa masas un tilpuma attiecību, taču pēdējos gadu desmitos pasaulē plašāk izmantots ĶMI, kura oriģinālais nosaukums ir Kaupa indekss.

ĶMI aprēķina šādi:

$$\frac{\text{masa (kg)}}{\text{garums (cm)}^2} 2 \times 10\,000$$

Pamatojoties uz vidējiem datiem par ķermeņa masu un augumu no 1927., 1936., 1962./1963., 1977. un 1998./1999. gada pētījumiem, tika veikta ĶMI dinamikas un tendenču analīze bērniem (zēniem un meitenēm) vecumā no 5 līdz 12 gadiem.

Rīgas pilsētas bērnu fizisko attīstību pirmskara periodā pētījuši K. Ādamsons (1927. gada pētījumā ietverti 1315 zēni un 1333 meitenes), A. Plūme (1921./1922. un 1929./1930. gada pētījumā ietverts 700 zēnu un meiteņu abos pētījumos), *Fedder's* (1936. gada pētījumā ietverti pamatskolas 3028 zēni un 3386 meitenes) un L. Krastiņa-Jērums (1936. gada pētījumā ietverti 299 zēni un 563 meitenes).

1. tabula

K. Ādamsona antropometrisko mērījumu dati, 1927 (3, 4)

Anthropometrical characteristics of the children by K. Ādamsons (1927)

Vecums (gados)	Bērnu skaits (n)	Auguma garums (cm)	Ķermeņa masa (kg)	ĶMI
Zēni				
7	13	116,3	22,0	16,26
8	84	123,3	25,6	16,83
9	146	127,3	27,0	16,66
10	196	132,7	30,2	17,15
11	220	136,3	31,8	17,11
12	187	141,2	35,2	17,65
Meitenes				
7	22	116,5	24,0	17,68
8	85	122,5	24,6	16,39
9	124	126,9	26,5	16,45
10	203	131,7	28,4	16,37
11	168	136,2	31,6	17,03
12	206	141,1	35,4	17,78

Piecdesmitajos gados plašus Rīgas pilsētas bērnu fiziskās attīstības pētījumus veikusi D. Buņimoviča (1954. un 1969. gadā). Pēckara posmā Latvijā bērnu fizisko attīstību pētīja K. Segleniece (1962./1963. gadā). Fiziskās attīstības normatīvus izveidojušas R. Millere un K. Segleniece (1977).

2. tabula

L. Krastiņas-Jērumas antropometrisko mērījumu dati, 1936 (3)***Anthropometrical characteristics of the children by L. Krastiņa-Jēruma (1936)***

Vecums (gados)	Bērnu skaits (n)	Auguma garums (cm)	Ķermeņa masa (kg)	ĶMI
Zēni				
8	31	127,98	26,24	16,02
9	39	133,98	30,00	16,71
10	40	139,06	33,16	17,14
11	41	144,16	38,50	18,52
12	65	150,60	40,54	17,87
Meitenes				
6	34	121,26	25,86	17,58
7	77	124,66	24,60	15,83
8	131	129,24	27,00	16,16
9	161	134,02	30,02	16,71
10	172	139,40	32,98	16,97
11	196	145,64	37,38	17,62
12	269	152,30	43,00	18,53

3. tabula

K. Seglenieces antropometrisko mērījumu dati, 1962./63. (7, 11)***Anthropometrical characteristics of the children by K. Segleniece (1962/63)***

Vecums (gados)	Bērnu skaits (n)	Auguma garums (cm)	Ķermeņa masa (kg)	ĶMI
Zēni				
5	100	109,96	19,46	
6	100	116,30	21,72	
7	100	122,62	24,2	
Meitenes				
5	100	109,52	19,10	
6	100	115,28	21,34	
7	100	121,88	23,94	

1998./1999. gadā, pārbaudot 4374 veselus bērnus visos Latvijas novados un ietverot izlasē visas sociāli ekonomiskās un etniskās grupas, bērnu fizisko attīstību pētījuši Dž. Krūmiņa, I. Kokare, I. Čivča, J. Vētra un U. Teibe. Pēc šiem datiem izstrādāti mūsdienām atbilstoši Latvijas bērnu fiziskās attīstības normatīvi, kas pirmoreiz publicēti 2005., bet atkārtoti – 2007. gadā.

2001./2002. gadā Veselības veicināšanas valsts aģentūrā veikts pētījums par bērnu veselību un ēšanas paradumiem, bet antropometrija nav veikta.

4. tabula

R. Milleres un K. Seglenieces antropometrisko mērījumu dati, 1977 (7, 8)***Anthropometrical characteristics of the children by R. Millere and K. Segleniece (1977)***

Vecums (gados)	Bērnu skaits (n)	Auguma garums (cm)	Ķermeņa masa (kg)	ĶMI
Zēni				
5	100	111,2	19,42	15,70
6	101	118,19	22,0	15,65
7	100	124,0	24,36	15,84
8	89	129,19	26,67	15,97
9	107	134,93	30,47	16,73
10	107	140,37	33,74	17,12
11	122	145,25	36,13	17,12
12	92	150,09	40,5	17,97
Meitenes				
5	101	111,9	19,58	15,63
6	101	118,74	22,28	15,8
7	104	124,24	24,45	15,84
8	104	128,58	25,99	15,72
9	121	134,26	29,48	16,35
10	115	139,13	32,52	16,8
11	132	145,95	37,05	17,39
12	139	150,09	40,22	17,85

5. tabula

Dž. Krūmiņas un I. Kokares antropometrisko mērījumu dati, 1998./1999. (5)***Anthropometrical characteristics of the children by Dž. Krūmiņa and I. Kokare (1998/1999)***

Vecums (gados)	Bērnu skaits (n)	Auguma garums (cm)	Ķermeņa masa (kg)	ĶMI
Zēni				
5	185	111,0	19,6	15,9
6	193	117,5	22,0	15,8
7	80	123,0	24,0	15,8
8	176	128,5	26,7	16,0
9	190	134,0	29,0	16,3
10	187	139,5	32,0	16,8
11	177	145,0	36,0	17,3
12	183	151,0	40,0	17,8
Meitenes				
5	185	110,0	19,0	15,7
6	193	116,0	21,0	15,6
7	103	122,0	23,0	15,6
8	189	127,8	25,1	15,7
9	176	133,5	28,0	15,9
10	180	139,8	31,6	16,3
11	182	145,7	35,5	16,9
12	162	151,4	40,0	17,6

Darba mērķis ir izvērtēt Latvijas pirmskolas un jaunākā skolas vecuma bērnu barojuma pakāpes izmaiņas gadsimta laikā, lai konstatētu, vai arī Latvijā ir aptaukošanās epidēmijas draudi.

Rezultāti un diskusija

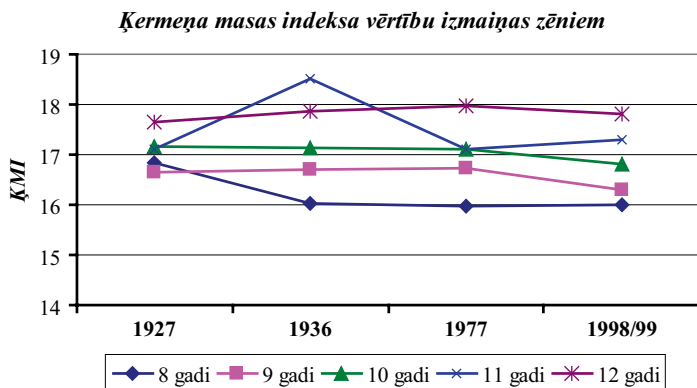
Aplūkojot ĶMI vērtību izmaiņas analizētajās izlasēs (no 1927. līdz 1998./99. gadam) zēniem un meitenēm (1. un 2. att.), konstatēts, ka astoņgadīgiem zēniem un meitenēm ĶMI maksimālā vērtība novērojama 1927. gada pētījumā (16,83 un 16,39 attiecīgi). Turpmākajos gados ĶMI vērtība šajā vecuma grupā samazinās.

Deviņu un desmit gadu vecumā zēniem ĶMI vērtības (16,66 un 17,15) no 1927. gada līdz 1977. gadam (tātad 50 gadus) saglabājas līdzīgas, bet 1997./98. gadā nedaudz samazinās (16,3 un 16,8). Deviņus un desmit gadus vecām meitenēm ĶMI vērtības maksimums novērots 1936. gadā (16,71 un 16,97). 1997./98. gada pētījumā ĶMI vērtība samazinājusies (15,9 un 16,3).

Vienpadsmit gadu vecumā gan zēnu, gan meiteņu ĶMI lielākā vērtība novērota 1936. gadā (18,52 un 17,62). Zēniem tā vēlāk strauji samazinās un 1997./98. gadā sasniedz tādu pašu vērtību kā pirms 50 gadiem – 1927. gadā (17,15). Meitenēm šīs pazīmes samazināšanās notiek pakāpeniski, līdz 1997./98. gadā ir 16,9.

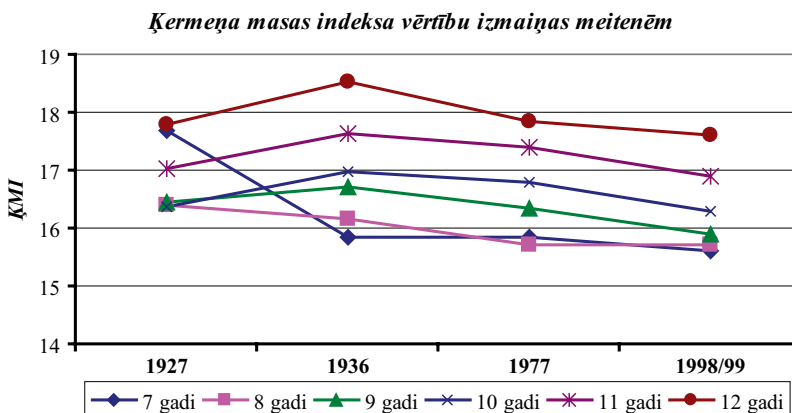
Divpadsmit gadu vecumā zēniem ĶMI lielākā vērtība ir vērojama 1977. gada pētījumā (17,97), un līdz gadsimta beigām tā nedaudz samazinās (17,8). Divpadsmitgadīgu meiteņu ĶMI lielākā vērtība ir 1936. gadā (18,53) un turpmāk samazinās, 1997./98. gadā sasniedzot 17,6.

No pētījumu datiem aprēķinātās ĶMI vērtības zēniem un meitenēm grafiski atspoguļotas 1. un 2. attēlā.



1. attēls. Ķermeņa masas indeksa vērtību izmaiņas zēniem

Fig. 1. Changes in BMI of Latvian boys aged 8 to 12 years



2. attēls. Ķermeņa masas indeksa vērtību izmaiņas meitenēm

Fig. 2. Changes in BMI of Latvian girls aged 7 to 12 years

Visās vecuma grupās analizētas ĶMI vērtību atšķirības zēniem un meitenēm (dzimuma dimorfisms). Izvērtējot ĶMI dzimuma dimorfismu, konstatēts, ka

- 20.–30. gados (K. Ādamsons) un 60.–70. gados (Millere, Segleniece, 1977) 7 g. v. meitenēm ĶMI vērtība ir lielāka nekā zēniem;
- 1936. gadā (L. Krastiņa-Jērums) 9 g. v. bērniem pēc šīs pazīmes dzimumu dimorfisms nav novērots;
- 60.–70. gados (Millere, Segleniece, 1977) meitenēm lielākas ĶMI vērtības nekā zēniem ir jau 6 g. v., bet 7 g. v. tās kļūst vienādas;
- pēc 1998. gada datiem, visās vecuma grupās ĶMI vērtības zēniem ir lielākas nekā meitenēm;
- ĶMI vērtību mazināšanās intensitāte meitenēm ir lielāka visās vecuma grupās salīdzinājumā ar zēniem.

Aplūkojot ķermeņa masas un garuma izmaiņu dinamiku 20. gadsimtā, redzams, ka periodā no 1927. līdz 1936. gadam abi parametri strauji palielinās.

“Mūsu apskatīto Rīgas pils. bērnu svars un garums ir izcili liels... Ādamsona 27. gadā publicēti dati rāda, ka Rīgas pamatskolniekiem visās vecuma grupās augums un svars daudz mazāks nekā mūsu skolniekiem. Šie pamatskolnieki augumā apmēram par trim gadiem paliek iepakaļ mūsu skolniekiem viņu pamatskolas gados. Arī svara atšķirība ir krasa,” raksta L. Krastiņa-Jērums (3, 4). Atsaucoties uz Ā. Plūmes 1931. gadā izdevumā “Pašvaldības Balss” publicēto rakstu “Antropometrijas nozīme skolēnu veselības stāvokļa novērtēšanā”, viņa izskaidro to tādējādi, ka 20. gados skolēnu augums bija mazāks iepriekšējo karu un revolūciju radīto apstākļu dēļ, “kas kavējuši skolnieku pieņemšanos garumā”.

No ĶMI vērtību izmaiņām kopumā var secināt, ka visā analizētajā laika periodā no 1927. līdz 1998./99. gadam bērniem (7–12 gadu vecumā) šis indekss ir samazinājies. To varētu izskaidrot ar tālaika Latvijas pirmās brīvvalsts ekonomiskā uzplaukuma periodu, kas radīja attiecīgu ģimenes modeli un ēšanas paradumus. Mazākas bērnu barojuma izmaiņas novērojamas visos turpmākajos periodos

(padomju un neatkarības pirmajos gados), jo kopumā ģimeņu sociāli ekonomiskie apstākļi un ēšanas paradumi bija līdzīgi: tā kā abi vecāki bija spiesti strādāt pilnu darba dienu, tad lielākā daļa bērnu apmeklēja mazbērnu novietnes un bērnudārzus, kur ļoti stingri tika ievērots, lai bērns saņemtu pēc toreiz pieņemtajiem standartiem nepieciešamo uzturu.

Analizējot 1977. un 1998./99. gada pētījumu datus, autori mēģināja atbildēt uz jautājumu, vai ĶMI ir samazinājies, pieaugot bērnu auguma garumam vai samazinoties bērnu ķermeņa masai attiecīgajā vecumā.

Ir zināms, ka ĶMI ietekmē divi faktori – ķermeņa masa un auguma garums:

$$\dot{I} MI = \frac{M}{A^2}, \quad (1)$$

kur M – ķermeņa masa (kg) un A – augums (cm).

ĶMI samazināšanos vai palielināšanos ietekmē abu šo faktoru pieaugums vai samazinājums.

Izpētīts, kurš no šiem faktoriem apskatītajos laika periodos ir bijis noteicošais bērnu ĶMI izmaiņās, izmantojot formulu:

$$\frac{M_2}{A_2^2} - \frac{M_1}{A_1^2} = \left(\frac{M_2}{A_2^2} - \frac{M_2}{A_1^2} \right) + \left(\frac{M_2}{A_1^2} - \frac{M_1}{A_1^2} \right), \quad (2)$$

kur M_2, A_2 – apskatāmā gada ķermeņa masa un augums, M_1, A_1 – bāzes (iepriekšējā laika posma) ķermeņa masa un augums jeb

$$I_K = I_A + I_M,$$

kur I_K ir ĶMI kopējā izmaiņa, I_A – auguma garuma A ietekme uz ĶMI izmaiņu, I_M un I_K parāda, cik lielā mērā ĶMI izmaiņas I_K apskatāmajā laika periodā ietekmē ķermeņa masas M izmaiņas.

Tādējādi var aprēķināt, cik liela apskatāmajā laika periodā bijusi abu šo faktoru atsevišķā ietekme uz ĶMI izmaiņām. Precīzāk, ievērosim, ka A , palielinoties I_A , ir negatīvs. Savukārt M , palielinoties I_M , ir pozitīvs. Situācijā, kad A palielinās un M samazinās, abi atsevišķie izmaiņu faktori I_A un I_M ir negatīvi, tātad arī kopējā izmaiņa I_K ir negatīva jeb ĶMI samazinās.

Aprēķinātie rezultāti 1998./99. gadam salīdzinājumā ar 1977. gadu parādīti 6. un 7. tabulā.

6. tabula

Auguma garuma un ķermeņa masas izmaiņu ietekme uz ĶMI izmaiņām zēniem, 1998./99. gads*Effects of height and weight variations on BMI of boys, 1998/99*

	ĶMI	Augums (m) (A)	Masa (kg) (M)	ĶMI izmaiņa pret 1977. g. (I_K)	Auguma ietekme (I_A)	Masas ietekme (I_M)
8 gadi	16,17	1,285	26,70	0,1902	0,1723	0,0180
9 gadi	16,15	1,340	29,00	-0,5856	0,2219	-0,8074
10 gadi	16,44	1,395	32,00	-0,6799	0,2032	-0,8831
11 gadi	16,72	1,457	35,50	-0,4024	-0,1038	-0,2986
12 gadi	17,54	1,510	40,00	-0,4353	-0,2134	-0,2220

7. tabula

Auguma garuma un ķermeņa masas izmaiņu ietekme uz ĶMI izmaiņām meitenēm, 1998./99. gads*Effects of height and weight variations on BMI for girls, 1998/99*

	ĶMI	Augums (m) (A)	Svars (kg) (M)	ĶMI izmaiņa pret 1977. g. (I_K)	Auguma ietekme (I_A)	Svara ietekme (I_M)
7 gadi	15,45	1,220	23,00	-0,3872	0,5522	-0,9394
8 gadi	15,37	1,278	25,10	-0,3524	0,1859	-0,5383
9 gadi	15,71	1,335	28,00	-0,6437	0,1774	-0,8210
10 gadi	16,17	1,398	31,60	-0,6314	-0,1561	-0,4753
11 gadi	16,72	1,457	35,50	-0,6704	0,0572	-0,7277
12 gadi	17,45	1,514	40,00	-0,4036	-0,3059	-0,0977

Secinājumi

1. Var secināt, ka ĶMI samazināšanās (gandrīz visās vecuma grupās zēniem un meitenēm) 1998./99. gadā salīdzinājumā ar 1977. gadu notikusi galvenokārt ķermeņa masas samazināšanās dēļ. Savukārt auguma garuma ietekme ir nenozīmīga. Piemēram, meitenēm 7, 8, 9 un 11 gadu vecumā auguma ietekme uz ĶMI izmaiņu ir pozitīva (tas nozīmē, ka auguma garums ir samazinājies). Tomēr ķermeņa masas negatīvā ietekme (ķermeņa masa ir samazinājusies) ir daudz lielāka, tādēļ ĶMI 1998./99. gadā kopumā samazinājās.

2. ĶMI samazināšanās (gandrīz visās vecuma grupās zēniem un meitenēm) 1998./99. gadā, salīdzinot ar 1977. gadu, notikusi galvenokārt ķermeņa masas samazināšanās dēļ. Savukārt auguma garuma ietekme ir nenozīmīga.

3. Salīdzinot ar Viļņā veiktiem līdzīga pētījuma datiem par garuma, ķermeņa masas un ĶMI izmaiņām periodā no 1985. līdz 1998. gadam, konstatēts, ka arī Lietuvā vērojamas līdzīgas tendences – attiecīgajā vecuma grupā bērnu auguma garums būtiski nemainās (akcelerācijas stabilizācija), bet ķermeņa masa samazinās. Līdz ar to bērni kļūst slaidāki, par ko liecina ĶMI samazināšanās (12).

4. Latvijas bērnu populācijā ĶMI vērtības 20. gadsimtā gan zēniem, gan meitenēm kopumā ir saglabājušās nemainīgas, tām ir tendence mazināties, kas ir pretrunā vairumā Eiropas valstu novērotajam, jo Eiropas Savienībā bērnu aptaukošanās būtiski palielinās pēdējo 10–15 gadu laikā.

5. Lai spriestu par situāciju mūsdienās un novērtētu, cik nopietni ir aptaukošanās epidēmijas draudi Latvijā, ir ļoti svarīgi veikt atkārtotu epidemioloģisku pētījumu.

Literatūra

1. Permana P. A., Nair S., Lee Y.-H., Luczy-Bachman G., Vazarova de Courten B. and Tataranni P. A. Subcutaneous abdominal preadipocyte differentiation in vitro inversely correlates with central obesity. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism*, June 1, 2004, 286 (6): 958–962.
2. Napoleon Wolanski. Indices of Body Build and Nutritional Status. *Journal of Human Ecology*, 1998, 137–151.
3. Krastiņa-Jērums L. Antropoloģiski dati par latviešu skolas jaunatni. *Latvijas Universitātes Raksti. Medicīnas fakultātes sērija III. Sējums Nr. 1–2 Latvijas Universitāte, Rīga, 1937, 235–272.*
4. Ādamsons K. Skolas bērnu vidējais garums un svars Rīgā. *Nākotnes spēks*, Nr. 3. Rīga, 1927, 131–135.
5. Krūmiņa Dž., Kokare I., Biķis E. Latvijas bērnu fiziskās attīstības novērtēšana. *SIA Medicīnas apgāds, Rīga, 2007, 40–46.*
6. Latvijas Medicīnas akadēmijas Anatomijas un antropoloģijas institūts. *Latvijas skolēnu fiziskās attīstības normatīvi. Rīga, 1999, 23–34.*
7. Millere R., Segleniece K. Bērņa augšana un attīstība. *Rīga: Zvaigzne, 1977.*
8. Millere R. Rīgas pilsētas skolēnu fiziskās attīstības standarti (skolām ar latviešu mācību valodu). *Rīgas Medicīnas institūts, Rīga, 1963.*
9. Millere R. Rīgas pilsētas latviešu skolēnu fiziskā attīstība, veselības stāvoklis un atveseļošanās pasākumi. *Disertācija med. zin. kand. grāda iegūšanai. Rīga, 1963.*
10. Āboltiņa M. Kā aug mūsu bērns. *Datorzinību centrs, Rīga, 1998, 78–80.*
11. Сегленице К. Б. Физическое развитие детей дошкольного возраста города Риги. *Издательство «Зинатне», Рига, 1973, 22–34.*
12. Tutkuviene J., Adomaitis A. Trends in Height, Weight and Body Mass Index of Lithuanian Schoolchildren in Vilnius between 1985 and 1998. *Acta medica Lithuanica 12, Vilnius, December 2001, 25–31.*

Summary

During the last 15 years, the number of adipose children has increased in most European countries. The purpose of our research was to investigate changes in the nutritional level of children of Latvia aged 7–12 in the 20th century, and to compare those with changes in other European countries.

The research material was composed of data gathered from the most important 20th century studies on Latvia's schoolchildren. BMI was calculated additionally. Analyzing changes of body height, weight, and BMI values, we concluded that there have been no significant changes of BMI values in Latvia's schoolchildren (both in boys and girls); the values even tend to decrease. We conclude that there was no tendency of adiposity in Latvia's schoolchildren at the end of the 20th century.

Keywords: *height, body mass, physical fitness, BMI, centenary changes, schoolchildren.*

Militārpersonu fiziskās izturības un fiziskās sagatavotības raksturojums *Characteristics of Physical Preparedness and Endurance of Military Personnel*

Liāna Pļaviņa

LU Medicīnas fakultāte, Anatomijas un histoloģijas katedra
Nacionālā aizsardzības akadēmija, Aizsardzības zinātniski pētnieciskais centrs
Lielvārdes iela 68, Rīga, LV-1006, e-pasts: lianap@inbox.lv

Militārpersonām individuālais fiziskās sagatavotības līmenis ir pamats sekmīgam dienestam un karjerai. Fiziskā sagatavotība tiek pārbaudīta un vērtēta ik gadu, kārtojot obligātos fiziskos normatīvus. Rakstā analizētajā pētījumā tika iekļautas 120 militārpersonas: kadeiti un virsnieki, virsdienesta karavīri. Pētāmajās grupās aptaujas gaitā tika noteikts smēķētāju īpatsvars, izvērtēti fiziskās sagatavotības rādītāji pēc fizisko un sportisko testu rezultātiem, analizēti antropometriskie rādītāji, koeficienti un indeksi. Militārpersonu vidē būtisks ir smēķētāju īpatsvars. Smēķēšanas negatīvā ietekme izpaudās kā fiziskās sagatavotības testu rezultātu pazemināšanās par 13 līdz 22%. Smēķētājiem bija būtiski sliktāki rezultāti ķermeņa augšdaļas pacelšanā, tendence samazināties rādītājiem roku saliekšanas testā un vispārējās izturības testā – krosā. Fiziskās sagatavotības rādītāji ir cieši saistīti ar antropometriskiem rādītājiem: ķermeņa masas indeksa un Ketlē indeksa rādītājiem.

Atslēgvārdi: fiziskā attīstība, fiziskā sagatavotība, militārpersonas, antropometriskie rādītāji.

Ievads

Indivīda fizisko spēju un darbības uzturēšanā liela nozīme ir regulārām fiziskām aktivitātēm. Militārpersonām individuālais fiziskās sagatavotības līmenis ir pamats sekmīgam dienestam un karjerai. Pamatojoties uz Aizsardzības ministrijas reglamentu, militārpersonu fiziskā sagatavotība tiek pārbaudīta un vērtēta ik gadu, kārtojot obligātos fiziskos normatīvus.

Fiziskās aktivitātes veicināšanā liela nozīme ir pamatzināšanu līmenim par veselīgu dzīvesveidu un kaitīgiem ieradumiem. Sen ir konstatēts fakts, ka cilvēki, kas nodarbojas ar fiziskām aktivitātēm, lieto racionālu uzturu, atsakās no kaitīgiem ieradumiem, strādā ar pilnu atdevi, retāk slimo un ir fiziski izturīgāki. Kustības var uzskatīt par nozīmīgāko dzīvības procesu stimulatoru (1). Pats par sevi vienreizējs smags nogurdinošs fizisks darbs, forsēts pārgājiens nespēj izraisīt veselības traucējumus. Kustību deficīts novājina fizioloģiskos procesus, pazemina tonusu un vielmaiņas procesu aktivitāti.

Pārdomāti fiziskie treniņi veicina nomākto organisma funkciju atjaunošanos, aktivizē fizioloģiskos procesus. Tāpēc fiziskie vingrinājumi tiek uzskatīti par nespecifisku profilakses līdzekli dažādu funkcionālu traucējumu un slimību gadījumos.

Fiziskie vingrinājumi ietekmē kustību un balsta aparātu. Vingrinājumu ietekmē pieaug muskuļu masa, apjoms, elasticitāte, muskuļu saraušanās spēka un ātruma rādītāji. Pēc fiziskās slodzes sirds, plaušas, citi orgāni un orgānu sistēmas funkcionē aktīvāk (3). Tiek trenētas dažādu orgānu funkcionālās spējas, paaugstinās organisma pretošanās spējas nelabvēlīgo faktoru ietekmei, tiek veicināta asinsrite un vielmaiņas procesi strādājošos muskuļos (2). Turpretim muskuļu bezdarbības laikā samazinās muskuļu asinsapgāde, līdz ar to arī skābekļa un barības vielu piegāde, un tas savukārt pazemina gan muskuļu apjomu, gan muskuļu spēku un to elasticitāti. Kustību ierobežojumi, pasīvs dzīvesveids izraisa pirmspatoloģiskas un patoloģiskas izmaiņas organismā. Fiziskām aktivitātēm ir daudzpusīga ietekme uz organismu, to gaitā pieaug organisma pretestība nelabvēlīgo faktoru ietekmei. Fiziski trenēti cilvēki veiksmīgāk pielāgojas skābekļa deficītam, spēj saglabāt augstas darbības pat nelabvēlīgos apstākļos (4). Eksperimenti ar dzīvniekiem parādījuši, ka sistemātiski fiziski vingrinājumi spēj aizkavēt ļaundabīgu audzēju attīstību. Fiziski vingrinājumi labvēlīgi ietekmē nervu sistēmas funkcionālo stāvokli, veicinot vielmaiņas procesus (6). Regulāra un organisma spējām atbilstoša fiziska slodze paaugstina darbības, palielina hemoglobīna, eritrocītu un fagocītu daudzumu asinīs, uzlabo kuņģa un zarnu trakta darbību.

Fiziskie vingrinājumi tieši ietekmē elpošanas sistēmu funkcionālo stāvokli (10). Slodzes laikā pieaug plaušu ventilācija, paātrinātā asinsrite nodrošina lielāka skābekļa daudzuma nokļūšanu asinīs, un arī pieaug no plaušām izdalītais ogļskābās gāzes daudzums, audos tiek veicināti vielmaiņas procesi ar aktīvāku plastiskā materiāla izmantošanu, bet slimības gadījumos veiksmīgāk noris atveseļošanās.

Fizisko vingrinājumu ietekmē paaugstinās nervu sistēmas tonuss, kas nodrošina aktīvāku iekšējo orgānu darbību un ceļ organisma adaptācijas spējas (5). Ir noskaidrots, ka saslimšanas gadījumā pareizi izvēlēta fiziska slodze aizkavē patoloģiskā procesa gaitu un veicina atveseļošanās (7).

Sportiskām aktivitātēm ir nozīmīga vieta katra karavīra ikdienā (11, 12, 13). Militārpersonām ir iespēja izvēlēties sev piemērotu konkrētas fiziskās aktivitātes veidu (9), lai veicinātu fizisko spēju attīstību un nostiprinātu veselību. Cilvēki izvēlas nodarboties ar sportiskām aktivitātēm brīvajā laikā, ārpus obligātā dienesta vai mācību laika (8, 14).

Materials un metodes

Pētījuma mērķis ir raksturot militārpersonu fiziskās sagatavotības līmeni.

Pētāmajā grupā tika iekļauti 120 dalībnieki. Tie tika iedalīti divās grupās: pirmo grupu veidoja kadeti (60 cilvēki), otro grupu veidoja virsnieki un virsdienesta karavīri (60 cilvēki). Pēc vecuma kadetu grupa tika iedalīta divās apakšgrupās: pirmā apakšgrupa – kadeti vecumā līdz 25 gadiem un otrā apakšgrupa – kadeti vecumā virs 25 gadiem. Virsnieku un virsdienesta karavīru grupu pēc vecuma iedalīja divās apakšgrupās: militārpersonas līdz 40 gadiem un militārpersonas virs 40 gadiem.

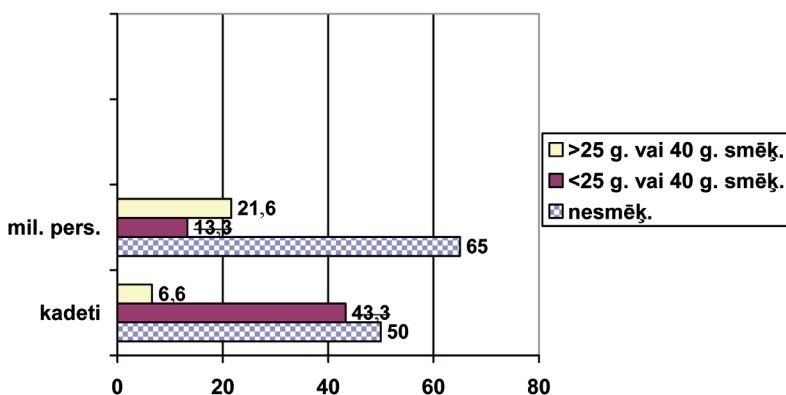
Pētāmajās grupās tika noteikts smēķētāju īpatsvars, izvērtēti fiziskās sagatavotības rādītāji pēc fizisko / sportisko testu rezultātiem, analizēti antropometriskie rādītāji,

koeficienti un indeksi: ķermeņa masas indekss un Ketlē indekss (tas raksturo konstitucionālo ķermeņa tipu).

Rezultāti un diskusija

Dalībnieku aptaujas dati liecina, ka smēķētāju īpatsvars ir būtisks: no 120 personām smēķēja 42,5% (25% no tiem bija kadeti, bet pārējie 17,5% – militārpersonas).

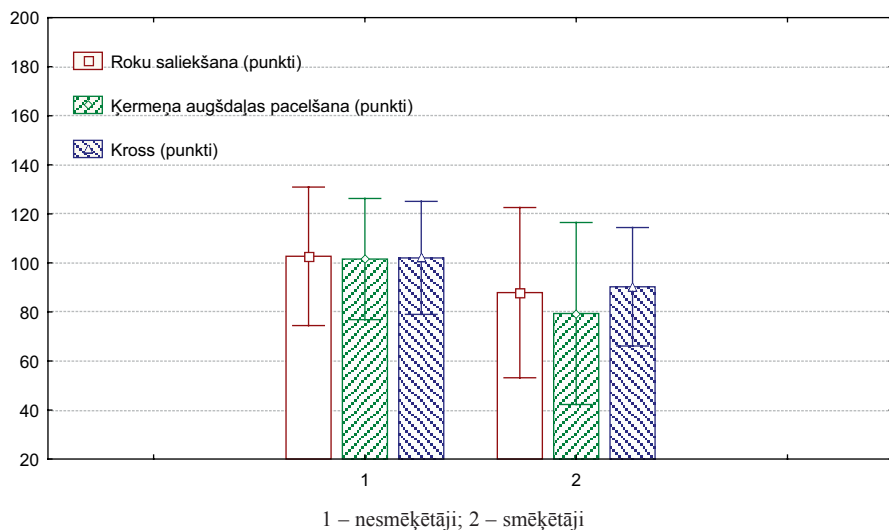
Analizējot smēķētāju vecumu, iegūti šādi rezultāti: pārsvarā smēķētāji kadeti bija vecumā līdz 25 gadiem – 26 cilvēki, virs 25 gadiem kadetu vidū bija mazāks smēķētāju skaits (4 cilvēki). Smēķētāju militārpersonu vecuma izkliede bija citāda (1. att.): līdz 40 gadiem smēķē 8 cilvēki, virs 40 gadiem – 13 cilvēki. 1. attēlā redzams abu pētāmo grupu dalībnieku iedalījums (%) smēķējošos (ņemot vērā vecuma kritērijus) un nesmēķējošos.



1. att. Pētāmo grupu dalībnieku iedalījums (%) nesmēķējošos un smēķējošos (pēc vecuma kritērijiem)

Fig. 1. Distribution of smokers according to age

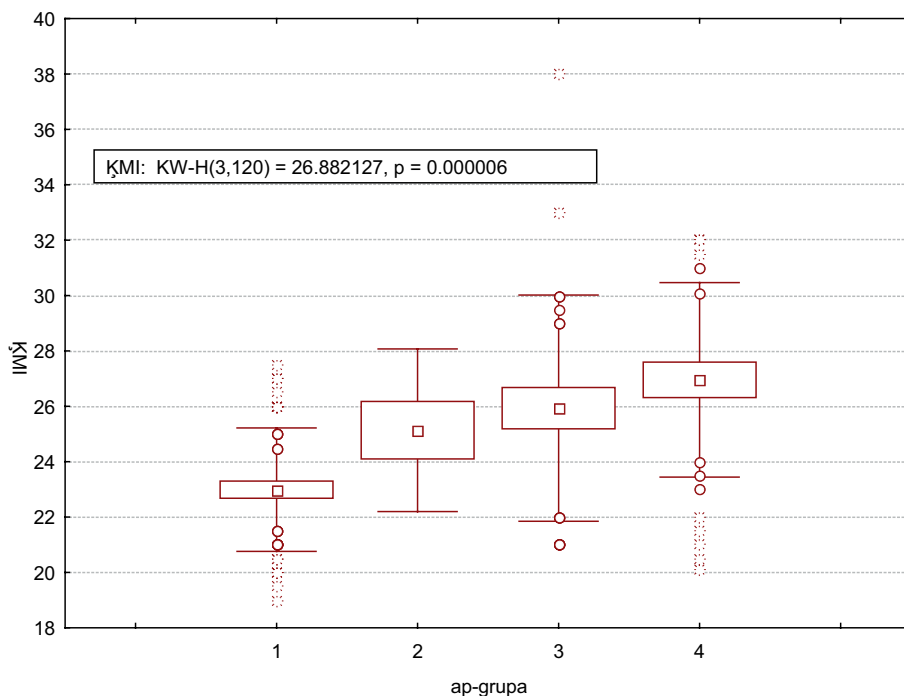
Visas militārpersonas ik gadu kāro trīs fiziskos testus: roku saliekšanas un iztaisnošanas testu, kas raksturo plecu joslas muskuļu izturību un spēku; ķermeņa augšdaļas pacelšanas testu, kas raksturo vēdera preses muskuļu spēku; vispārējās izturības testu – krosu 3000 m (vīr.) vai 1500 m (siev.). Katrā testā rezultāts tiek vērtēts punktos – ballēs. Ikgadējiem fizisko testu rezultātiem ir konstatēta saistība ar smēķēšanu. Izrādījās, ka roku saliekšanas testā smēķētājiem bija par 15% zemāki rezultāti nekā nesmēķētājiem ($p = 0,116$). Ķermeņa augšdaļas pacelšanas testā uzrādītie rezultāti bija par 23% zemāki smēķētāju grupā ($p = 0,022$), un arī vispārējās sagatavotības testā smēķētāju rezultāti bija par 12% zemāki ($p = 0,096$) (2. att).



2. att. Kadetu fiziskās sagatavotības dati punktos: roku saliekšana, ķermeņa augšdaļas pacelšana un kross (rezultāti nesmēķētāju (1) un smēķētāju (2) grupā)

Fig. 2. Results of physical tests in points: push-ups test, sit-ups test, and country cross race in non-smokers (1) and smokers (2)

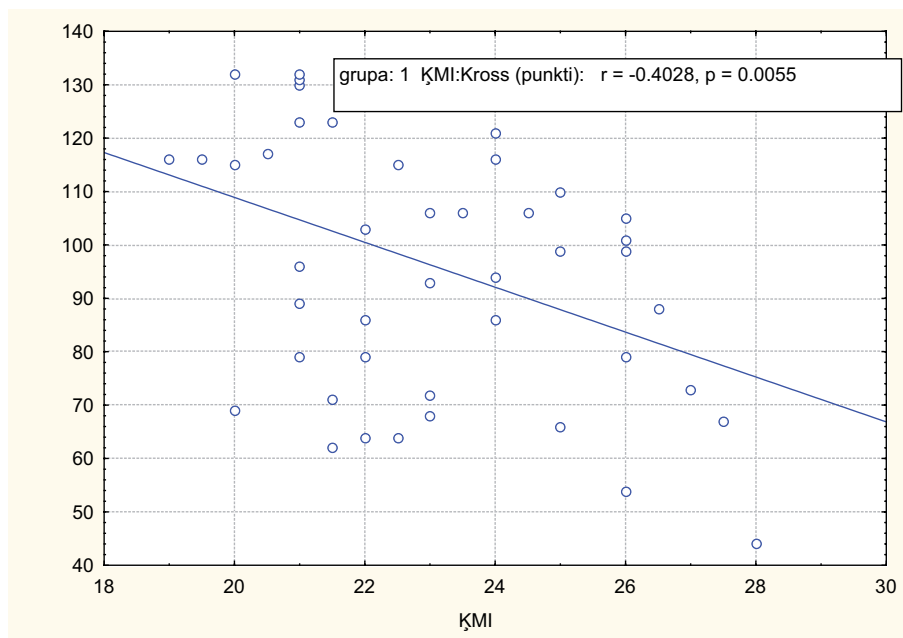
Kadetu un militārpersonu grupā tika noteikti antropometriskie koeficienti. Viens no plaši pazīstamiem un biežāk izmantotiem indeksiem ir ķermeņa masas indekss. Tas raksturo ķermeņa masas atbilstību normatīviem un tiek izmantots adipozitātes pakāpes noteikšanai. Pirmajā pētāmajā grupā – kadetu grupā ķermeņa masas indekss bija paaugstināts (virs normatīvā rādītāja 25 kg/m^2) 30% kadetu (18 cilvēkiem). Otrajā pētāmajā grupā ķermeņa masas indekss virs normatīvā rādītāja tika noteikts 65% militārpersonu, bet ķermeņa masas indeksa rādītāji virs 30 kg/m^2 fiksēti 8 cilvēkiem (13,3%) (3. att.). Vidējie ķermeņa masas indeksa rādītāji pirmajā grupā (kadetiem) bija $23,3 \pm 2,4 \text{ kg/m}^2$, bet militārpersonām tie bija $26,5 \pm 3,8 \text{ kg/m}^2$.



3. att. Ķermeņa masas indekss (ĶMI): kadeti līdz 25 g. (1), kadeti virs 25 g. (2) un militārpersonas līdz 40 g. (3), militārpersonas virs 40 g. (4). ap-grupa – apakšgrupas (1), (2), (3), (4)

Fig. 3. Distribution of body mass index (BMI) in cadets up to 25 y-s (1), over 25 y-s (2), and in military personnel up to 40 y-s (3) and over 40 y-s (4)

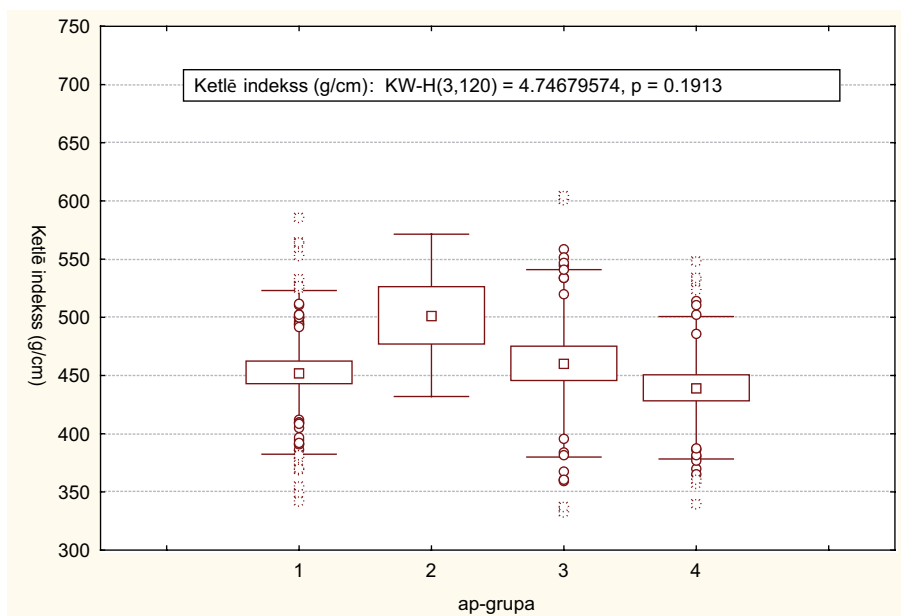
Ķermeņa masas indeksa rādītāju saistība ar fiziskās sagatavotības testu rezultātiem (krosa rezultātiem) ($r = -0,40, p < 0,006$) atspoguļota 4. attēlā.



4. att. Saistība starp ķermeņa masas indeksu un krosa rezultātu kadetiem ($r = -0,40$, $p < 0,006$)

Fig. 4. The relationship between body mass index and country cross race results ($r = -0.40$, $p < 0.006$)

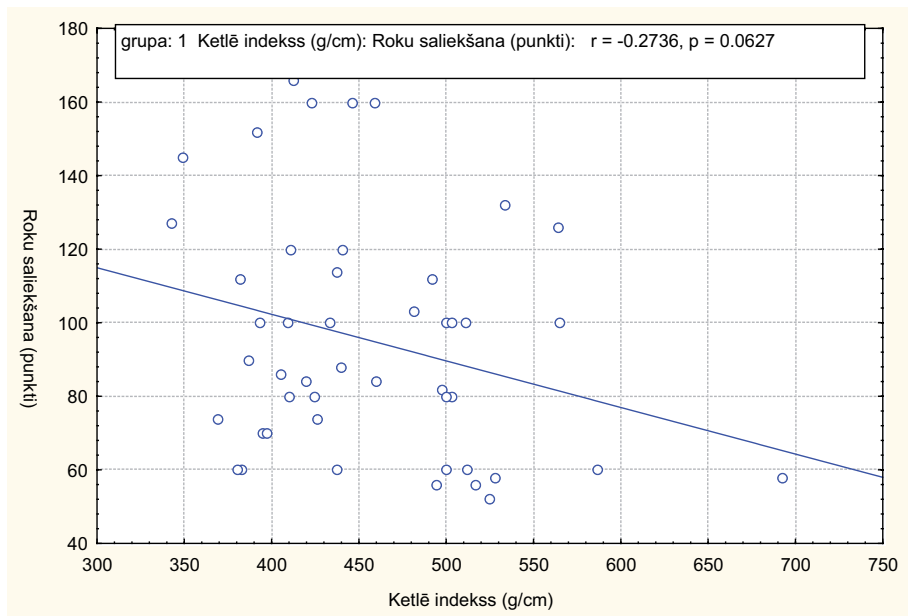
Personām ar augstākiem ķermeņa masas indeksa rādītājiem (virs normatīviem) ir zemāki fiziskās sagatavotības testu rezultāti. Pētāmajās grupās 84 cilvēkiem (70%) Ketlē indeksa rādītāji pārsniedza normatīvos rādītājus, un tas liecina par hiperstēnisko ķermeņa uzbūves tipu 35,8% personu kadetu grupā un 34,1% militārpersonu grupā (5. att.).



5. att. Masas pieauguma (Ketlē) indekss: kadeti līdz 25 g. (1), kadeti virs 25 g. (2) un militārpersonas līdz 40 g. (3), militārpersonas virs 40 g. (4). ap-grupa – apakšgrupas (1), (2), (3), (4)

Fig. 5. Distribution of body mass/height index in cadets aged up to 25 y-s (1), over 25 y-s, and military personnel aged up to 40 y-s (3) and over 40 y-s (4)

Fiziskās sagatavotības testu rezultāti roku saliekšanā un iztaisnošanā saistīti ar Ketlē indeksa rādītāju lielumiem ($r = -0,40, p < 0,006$), kas redzami 6. attēlā.



6. att. Saistība starp Ketilē indeksu un roku saliekšanu kadetiem ($r = -0,27$, $p = 0,06$ – korelācijas tendence)

Fig. 6. The relationship between body mass/height index and push-ups tests results

Secinājumi

Smēķēšanai ir negatīva ietekme uz fiziskās sagatavotības līmeni, tā izpaužas kā fiziskās sagatavotības testa rezultātu pazemināšanās no 13 līdz 22% dažādos testos. Smēķētājiem bija būtiski sliktāki rezultāti ķermeņa augšdaļas pacelšanā ($p = 0,022$), bet rādītāju samazinājuma tendence tika noteikta roku saliekšanas testā ($p = 0,116$) un vispārējās izturības testā – krosā ($p = 0,096$).

Militārpersonām un kadetiem noteikta tendence, ka ķermeņa masas indeksa rādītāji un Ketilē indeksa rādītāji paaugstinās virs normatīviem rādītājiem. 30% kadetu un 65% militārpersonu tie būtiski pārsniedz normatīvus.

Fiziskās sagatavotības rādītāji cieši saistīti ar antropometriskiem rādītājiem. Noteikta roku saliekšanas testa rezultātu tendence korelācijai ar Ketilē indeksa rādītājiem ($r = -0,27$, $p = 0,06$) un krosa rezultātu korelācijai ar ķermeņa masas indeksa rādītājiem ($r = -0,30$, $p = 0,045$).

Literatūra

1. Cambell M. Physiological changes in aging muscles. *J. of neurology, neurosurgery and neuropsychiatry*, 1973, 36, 174–182.

2. Haddock C. K., Poston W. S. C., Klesges R. C., Talcott G. W., Lando H., Dill P. L. An Examination of Body Weight Standards and the Association between Weight and Health Behaviors in the US Air Forces. *J. of Military Medicine*, 1999, 164(1), 51–54.
3. Hollossy I. Adaptations of skeletal muscle to endurance and their metabolic consequence. *J. Appl. Physiol.* 1984, 56, 831–838.
4. Labudová J. Place and role of adapted physical activity in sport sciences. In: *Proceedings Book. Kinesiology: New Perspectives. 3-rd International Scientific Conference, Opatija, Croatia, Sept. 25-29, 2002*, 391–393.
5. Laudanska-Krzeminska I. Physical activity and other health behaviours on the example of working people. In: *New Ideas in Sport Sciences. Vol. 15, Part 2, Warsaw-Poznan-Leszno*, 2003, 157–160.
6. Maughan R. J., Shirreffs S. M., Baxter-Jones A. D. G. Nutrition and the Young Athlete. In: *3rd International Symposium, 13–14 Sept., Krakow. Medicina Sportiva 2000, Vol. 4 (EE1), No. 1*, 51–58.
7. Kaarma H., Lintsi M., Saluste L., Koskel S., Arend A. Estonian national norms of height, weight and body mass index for men and women aged 20–70 years. In: *Papers on Anthropology XVI. University of Tartu. Centre for Physical Anthropology. Tartu*, 2007, 139–146.
8. Kalichman L., Kobykiansky E. Body composition: variations during the life-span and association with manifestations of aging. In: *Papers on Anthropology, Tartu*, 2005, XVI, 147–169.
9. Labalaiks Z., Dravnieks J., Bērziņš U., Tarasovs E. *Sporta instruktora rokasgrāmata karavīriem*. 2004, Rīga, 455.
10. Michielon G., Scurati R., Roione G. C., Longo S., Invernizzi P. L. Tests of physical evaluation and performance level: Comparison between national and regional boxes. In: *Book of Abstracts of 11th Congress of ECSS, Lausanne*, 2006, 112–113.
11. Plavina L. The description of students' physical development. In: *Proceedings of the International Scientific Conference, Riga Teacher Training and Educational Management Academy, 05–06 April, 2004, Riga*, 399–406.
12. Plavina L. Characteristics of physical preparedness and physical fitness of military officers and soldiers. In: *Papers on Anthropology XVI. University of Tartu. Centre for Physical Anthropology. Tartu*, 2007, 237–243.
13. Umbraško A. Fiziskās sagatavotības īpatnības un tendences dažādu valstu bruņotajos spēkos. *RTU Zinātniskie raksti humanitārās un sociālās zinātnēs*. 2004, sērija 8, sēj. 6, Rīga, 230–236.
14. Wyss T., Marti B., Mäder U. Physical Fitness of draftees compared with their habitual physical activity. In: *Book of Abstracts of 11th Congress of ECSS, 2006, Lausanne*, 215.

Summary

Physical activity and physical endurance is an important advantage for military personnel in their daily work in order for physical and mental health to be maintained. The level of physical endurance and preparedness depends on individual health standards, sports activities, physical development, and health-related behaviour. Reduced time for physical activities has a negative impact on health and physical endurance. Military personnel check their physical preparedness level annually by standard physical tests. There are individuals who show poor results in the standard physical test. Some persons have health problems, their body mass features increase. The aim of our investigation

was to analyze the physical endurance level of military personnel. We included military personnel (officers and soldiers) and cadets into the examined group. The group was divided into two subgroups according to the age. We determined the anthropometric data, fixed the results in standard physical tests, and analyzed physical endurance level. Smoking has a negative impact on levels of physical preparedness: the results of standard physical tests were from 13% to 22% worse in smokers, there was a tendency of increasing body mass. The body mass index data were over the standard level for 30% in the cadets` group and for 65% in the military personnel group. Physical endurance closely correlated with the weight/height index and the body mass index.

Psihotropo zāļu izrakstīšana un izsniegšana Rīgas aptiekās

Prescription and Dispensing of Psychotropic Drugs through Community Pharmacies in Rīga

**Kristīne Vrublevska, Anna Bulajeva, Kaspars Jēkabsons,
Līga Krīgere, Una Riekstiņa, Ruta Muceniece**

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: k.vrublevska@gmail.com

Psihotropo līdzekļu patēriņš pasaulē ar katru gadu pieaug, tomēr iespējamo blakusparādību un pierašanas dēļ tas ir stingri jākontrolē. Šī pētījuma mērķis ir iegūt informāciju par ambulatoro pacientu psihotropo zāļu patēriņu 2007. gadā, analizējot Rīgas aptiekās saņemtās receptes. Iegūtie dati liecina, ka Rīgas aptiekās psihotropo zāļu receptes ir 5% no visām aptiekā saņemtajām receptēm, un pacienti galvenokārt pērk benzodiazepīnus. Sievietes tos lieto divas reizes biežāk nekā vīrieši. 68% gadījumu psihotropo zāļu receptes bija izrakstījuši ģimenes ārsti. Salīdzinot ar autoru iepriekšējo pētījumu Latgalē, Rīgā netika atrasts lielāks psihotropo zāļu patēriņš, bet populārākie benzodiazepīni ir citi – klonazepāms un bromazepāms. Latgalē ārsti visbiežāk izrakstījuši diazepāmu – 12 definētās diennakts devas (DDD) uz 1000 iedzīvotājiem dienā (DDD/1000/dienā). Rīgā diazepāma patēriņš ir daudz mazāks nekā Latgalē – 1,3 DDD/1000/dienā, bet visbiežāk bija izrakstīts klonazepāms. Klonazepāma patēriņš sasniedza apmēram 6 DDD/1000/dienā, bet vidējais psihotropo līdzekļu patēriņš bija 24 DDD/100/dienā, kas ir apmēram Dānijas pacientu patēriņa līmenī (30 DDD/1000/dienā), bet daudz mazāks nekā Somijā, Šveicē un Nīderlandē, kur tas sasniedz 70–140 DDD/1000/dienā.

Salīdzinot ar Valsts statistikas pārvaldes 2005. gada ziņojumu, Rīgas aptiekās iegūtie dati liecina nevis par psihotropo līdzekļu lietošanas pieaugumu, bet par konkrētu psihotropo zāļu izrakstīšanas izmaiņām.

Atslēgvārdi: psihotropie līdzekļi, benzodiazepīni, pacientu vecums un dzimums, zāļu patēriņš.

Ievads

Statistika liecina, ka ar katru gadu (18) pieaug psihotropo zāļu patēriņš, mainās konkrētu preparātu lietošanas tendences, kā arī pacientu vecums. Pēc literatūras datiem, arvien jaunāki pacienti sāk lietot psihotropos preparātus (18). Eiropas Savienībā (ES) visbiežāk sastopamās slimības ir nemiers un depresija, bet garīgās veselības aprūpes ziņā pastāv liela nevienlīdzība dalībvalstīs un starp tām, un valstu veselības politikas iniciatīvas parasti ir fragmentāras. Galvenie ES garīgās veselības stratēģijas mērķi ir profilakse, aprūpe un ārstēšana, cīņa pret stigmatu un diskrimināciju, kuras upuri ir personas, kas cieš no garīgām slimībām, kā arī pilnīgāka informācija un zināšanas. Stigma varētu tikt definēta kā sabiedrības kaunēšanās, slimnieku nosodīšana un nepieņemšana, tādēļ slimnieki jūtas atstumti vai izolēti. Stigmū

saistība ar visu veidu garīgām saslimšanām ir sabiedrībā noturīga parādība, un tā palielinās, jo vairāk kāda indivīda uzvedība atšķiras no “normas”. Šāda stigmatas esamība tika konstatēta starptautiskā sešu valstu pētījumā, kurā tika aptaujāti arī Medicīnas fakultātes farmācijas programmu trešā kursa studenti (3). Iegūtie dati par stigmatas esamību liecina, ka jāturpina pētījumi gan par psihotropo zāļu patēriņu, gan sabiedrības attieksmi pret psihiskām slimībām.

2004. gadā ES tika veikts plašs pētījums (*ESEMeD project*) par dažādu psihotropo zāļu izsniegšanu aptiekās, bet Latvija tajā nebija iekļauta. ESEMeD pētījumā noskaidrots, ka no psihotropiem līdzekļiem ES valstīs galvenokārt lieto benzodiazepīnus un tiem radniecīgas vielas (1).

2004. gadā Latvijā tika mainīta psihotropo līdzekļu izrakstīšanas kārtība un receptu blankas. Būtiski ir izmainīts narkotisko un tām pielīdzināto psihotropo vielu maksimālais daudzums, ko atļauts izrakstīt uz vienas receptes. Paplašināts diagnožu saraksts zālēm, kuras uz parastās receptes veidlapas atļauts izrakstīt vairāk nekā trīs mēnešus ilgām ārstēšanas kursam (MK noteikumu Nr. 175 ceturtais pielikums). Izrakstot recepti psihotropo zāļu iegādei, izņemot MK noteikumu Nr. 175 ceturtajā pielikumā minētos gadījumus, ārsts drīkst izrakstīt ne vairāk par vienu iepakojumu. Psihiatrs, narkologs, psihoterapeits, neirologs un ģimenes ārsts, ja nepieciešams, drīkst izrakstīt minētās zāles ārstēšanas kursam līdz vienam mēnesim, uz receptes veidlapas norādot “Ārstēšanas kursam” un norādi apstiprinot ar parakstu un personīgo spiedienu. Katra aptieka reizi mēnesī ziņo Valsts obligātās veselības apdrošināšanas aģentūrai (VOVAA) par psihotropo medikamentu izsniegšanu.

Lai noskaidrotu, vai šie stingrākie psihotropo vielu izrakstīšanas noteikumi un izsniegšana aptiekās ir ietekmējuši psihotropo zāļu patēriņu, tika pētīta psihotropo zāļu izsniegšana sešās Latgales aptiekās laika periodā no 2004. līdz 2007. gadam un noskaidrots, ka joprojām dominē pieprasījums pēc benzodiazepīniem. Ģimenes ārsti galvenokārt izrakstīja diazepamu – 12 definētas diennakts devas (DDD) uz 1000 iedzīvotājiem dienā (16). Tomēr psihotropo zāļu patēriņš Latgalē (23 DDD/1000/dienā lauku rajonos un 35 DDD/1000/dienā pilsētās) un pēc Latvijas Republikas Centrālās statistikas pārvaldes ziņojuma, kopā valstī 2005. gadā (29 DDD/1000/dienā) salīdzinājumā ar citām ES valstīm ir neliels (16). Piemēram, Šveicē 2007. gadā tikai benzodiazepīnu patēriņš bija 43,3 DDD/1000/dienā (10), bet Īslandē jau 1998. gadā tas bija 143,2 DDD/1000/dienā (12).

Materiāli un metodes

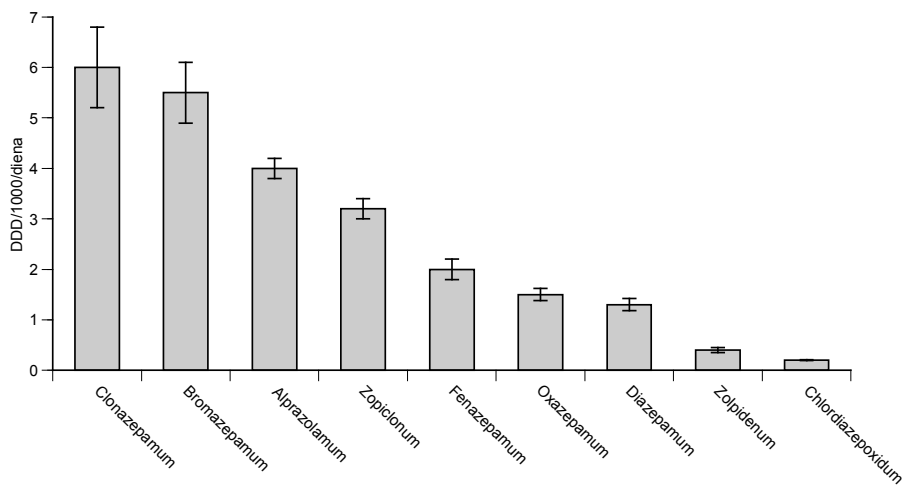
Pētījumam brīvi izvēlētas divas Rīgas aptiekas, un detalizēti analizētas psihotropo līdzekļu receptes par 2007. gadu. Telefonintervijā 10 citās aptiekās noskaidroti visvairāk pārdotie psihotropie līdzekļi, to daudzums un saņemto receptu skaits. Tādējādi iegūti dati no 12 lielākajām Rīgas aptiekām. Aptiekas psihotropo līdzekļu receptes uzglabā trīs gadus atsevišķi no citām receptēm. Farmaceiti aptiekās skaita kopējo saņemto receptu skaitu un psihotropo receptu skaitu. Šie lielumi izmantoti, lai noteiktu, cik procentu no kopējā receptu skaita aizņem psihotropo zāļu receptes.

Iegūtie dati par pacientu vecumu, dzimumu, slimības diagnozes kodu un ārsta specialitāti, kurš ir izrakstījis recepti, tika ierakstīti *Microsoft Excel* programmas darbalapā. Pacienti tika piešķirts identifikācijas kods, lai netiktu atklāts personas

kods un vārds. Pētījumam izmantotas pieaugušiem cilvēkiem (sākot no 18 gadu vecuma) izrakstītās receptes. Zāļu patēriņš aprēķināts pēc starptautiskās anatomiskās, terapeitiskās, ķīmiskās ATC/DDD (*Anatomic Therapeutic Chemical (ATC)/DDD methodology*) metodes (11, 17). Mainīgie lielumi matemātiskai apstrādei bija diagnožu kodi, pacienta dzimums, vecums, zāļu patēriņš.

Rezultāti

Pārskatot receptes, konstatēts, ka analizējamā laika periodā aptiekās psihotropie līdzekļi ir izsniegti apmēram 5% apjomā no kopējā izsniegto medikamentu skaita. Galvenokārt ir izsniegti benzodiazepīni un tiem radniecīgas zāles, kas veido apmēram 85% no kopējā izsniegto psihotropo medikamentu skaita. No sievietēm ir saņemti 68,5% psihotropo līdzekļu receptu, no vīriešiem – 31,5%. Ņemot vērā to, ka Latvijā uz vienas receptes drīkst izrakstīt ne vairāk kā vienu psihotropo līdzekli un ne vairāk par vienu oriģinālu, tad receptu skaits liecina arī par to, ka sievietes biežāk nekā vīrieši apmeklē ārstu. Aptaujā noskaidrots, ka visās 12 aptiekās vislielākais pieprasījums ir pēc klonazepāma un bromazepāma. Aprēķināts visvairāk pieprasīto deviņu medikamentu patēriņš DDD/1000/dienā (1. attēls). Vidējais summārais patēriņš ir apmēram 24 DDD/1000/dienā.

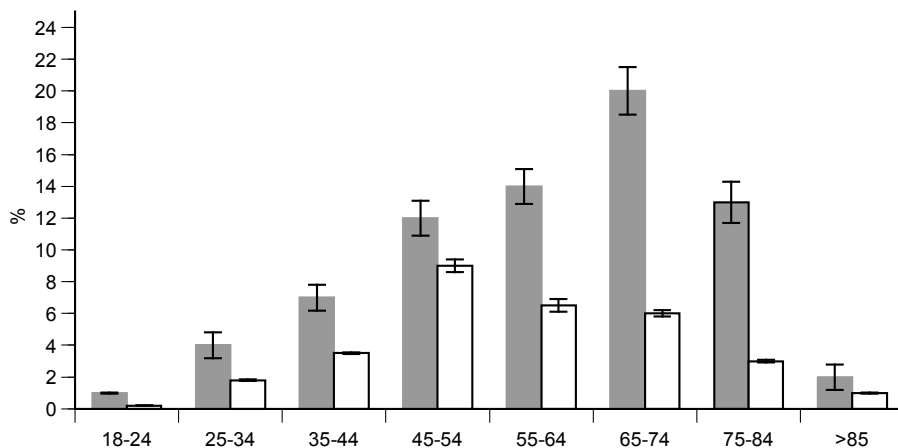


1. attēls. Pieprasītāko psihotropo zāļu patēriņš DDD/1000/dienā (vidējie lielumi ± standartnovirze (SN))

Figure 1. Consumption of the most demanded psychotropic drugs (the average ± standard deviation (SD))

Analizējot izsniegto psihotropo zāļu receptu skaitu atbilstoši ambulatoro pacientu vecumam, noskaidrots, ka tās pārsvarā iesniedz pacienti vecumā no 45 līdz 84 gadiem. Sievietēm līdz 74 gadiem ir vērojama tendence ar katru gadu lietot vairāk medikamentu. Vīrieši visvairāk psihotropos līdzekļus lieto vecumā no 45 līdz 54 gadiem (2. attēls).

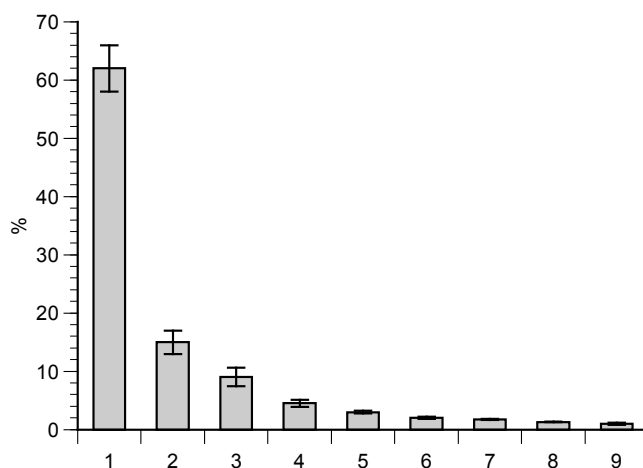
Kopējā tendence visās vecuma grupās ir vienāda – sievietes patērē gandrīz divreiz vairāk psihotropo līdzekļu nekā vīrieši.



2. attēls. Psihotropo zāļu recepšu skaits (%), kas saņemts Rīgas aptiekās no attiecīgā vecuma un dzimuma pacientiem (sievietes – pelēkais stabiņš, vīrieši – baltais stabiņš. Rezultāti attēloti kā vidējie rādītāji ± standartnovirze (SN))

Figure 2. The number of prescriptions for psychotropic drugs (%) according to the patients' gender and age. Women – gray bars, men – white bars. Data shown as the average ± standard deviation (SD)

Latvijā slimības klasificē pēc Starptautiskā statistisko slimību un veselības problēmu klasifikatora (SSK-10), kas tika izmantots, lai noteiktu diagnožu grupas, ar kurām izrakstīti psihotropie līdzekļi. Pēc datu apkopošanas secināts, ka pētījuma laikā psihotropos medikamentus pārsvarā ārsti izrakstījuši neirotisku, ar stresu saistītu somatoformu traucējumu gadījumā, kas veido 62% no visām diagnozēm (3. attēls). Otrajā vietā ir diagnozes, kas saistītas ar nervu sistēmas traucējumiem (15%). Šajā grupā dominē miega traucējumi (bezmiegs, trauksmes sajūta). Trešajā vietā ir diagnožu grupa, kas saistīta ar šizofrēniju, šizotipiskiem traucējumiem un murgiem (9%). Daudz retāk psihotropie līdzekļi izrakstīti citu iemeslu dēļ (3. attēls).



3. attēls. Receptu skaits (%), kas atbilst diagnozēm, kādām izrakstīti psihotropie līdzekļi (attēlā parādīti vidējie rādītāji \pm SN)

Apzīmējumi:

- 1 – neirotiskie, ar stresu saistīti un somatoformi traucējumi;
- 2 – nervu sistēmas slimības;
- 3 – šizofrēnija, šizotipiskie traucējumi un murgi;
- 4 – asinsrites sistēmas traucējumi;
- 5 – garastāvokļa traucējumi;
- 6 – organiski psihiski traucējumi, ieskaitot simptomātiskos;
- 7 – skeleta, muskuļa un saistaudu slimības;
- 8 – audzēji;
- 9 – citas slimības.

Figure 3. The number of prescriptions (%) corresponding to the codes of diagnoses (the average \pm SD)

- 1 – neurotic, stress-related and somatoform disorders;
- 2 – diseases of the nervous system;
- 3 – schizophrenia;
- 4 – disorders of the vascular system;
- 5 – disorders of mood;
- 6 – psychotic disorders, including the symptomatic;
- 7 – skeleton, muscle, and connective tissue diseases;
- 8 – cancer;
- 9 – others.

Analizējot receptes un apkopojot datus no tām, secināts, ka psihotropos līdzekļus kopumā izrakstījuši 14 dažādu specialitāšu ārsti. Visvairāk analizējamā laikā periodā psihotropos medikamentus izrakstījuši ģimenes ārsti (68%), psihiatri (18%) un neirologi (8%).

Izsniegto oriģinālu skaits pēc zāļu izraisītā farmakoloģiskā efekta veidoja attiecību: psiholeptiskie jeb anksiolītiskie līdzekļi > hipnotiskie, sedatīvie, miega līdzekļi > antiepileptiskie līdzekļi.

Diskusija

Šajā pētījumā analizēts psihotropo zāļu patēriņš Rīgas aptiekās. Pirmais plašākais pētījums par psihotropo zāļu patēriņu veikts Latgalē (16). Latvijā ir zināmi Statistikas pārvaldes dati par kopējo zāļu patēriņu, bet trūkst reģionālo datu un pētījumu par lielu pilsētu iedzīvotāju zāļu lietošanas tendencēm. Pretēji Latvijai citās valstīs tādi pētījumi notiek bieži. Plašākais no tiem bija ESEMeD projekts (1), kurā psihotropo zāļu patēriņa noskaidrošanā ES valstīs piedalījās 2000 pētnieku.

Latvijā līdzīgi kā citās valstīs ambulatoro pacientu ārstēšanai psihotropos līdzekļus izraksta ģimenes ārsti, Norvēģijā pat 80% gadījumu (2). Visos literatūrā minētajos pētījumos ir atklāts, ka dominē benzodiazepīnu un tiem līdzīgo savienojumu patēriņš. Piemēram, Nīderlandē 10 gadu laikā izmaiņas psihotropo zāļu izrakstīšanā ir bijušas minimālas (13, 14). Tomēr Rīgas aptiekās atšķirībā no Latgalē novērotā diazepāma patēriņa (12 DDD/1000/dienā) tik liels kāda medikamenta pārākums netika novērots. Rīgas aptiekās 2007. gadā galvenokārt ir pirkti klonazepāms un bromazepāms. Rīgā pieaug arī zopiklona patēriņš, kas Latgalē tikpat kā netika izrakstīts. Straujš zopiklona un zolpidēma tirdzniecības pieaugums ir novērots Norvēģijā (2). Somijā antidepresanti ir galvenokārt izrakstītie psihotropie līdzekļi, ko skaidro ar izplatīto depresiju skaitu (15). Depresijas izpausmes Somijā saistāmas ar saulaino dienu mazo skaitu, aukstu un drūmu laiku, kā arī ar somu mentalitāti.

Vidējais psihotropo zāļu patēriņš Rīgā ir līdzīgs vidējam patēriņam Latvijā un Dānijā (2, 12), bet mazāks nekā Somijā (12) un Šveicē (10). Šveicē benzodiazepīnu patēriņš vien 2007. gadā sasniedza 43,3 DDD/1000/dienā. Izraēlā 6,9% iedzīvotāju lieto psihotropos medikamentus, bet antidepresanti ir tikai trešajā vietā popularitātes ziņā. Secināts, ka psihotropos līdzekļus vairāk lieto sievietes pēc 70 gadiem un pārsvarā mazizglītoti cilvēki ar pamatskolas vai vidusskolas izglītību (18).

Šis pētījums apliecināja jau nostiprinājušos atziņu, ka sievietes un gados vecāki cilvēki vairāk lieto psihotropos līdzekļus, galvenokārt benzodiazepīnus. Tas tika konstatēts gan ESEMeD pētījumā, gan atsevišķās valstīs dažādās pilsētās un reģionos veiktos pētījumos Itālijā, Vācijā, Francijā un Apvienotajā Karalistē (9). Pēc oficiālās informācijas, vērojama paradoksāla situācija – vīrieši ir mazāk pakļauti psihiskām slimībām, taču viņi līdz piecām reizēm biežāk izdara pašnāvības nekā sievietes (6).

Lietuvā antidepresantus visvairāk izraksta cilvēkiem vecumā no 40 līdz 59 gadiem (5), kas atšķiras no mūsu pētījuma rezultātiem par benzodiazepīnu lietošanas maksimumu 55–75 gadu vecumā. Atšķiras arī proporcijas starp sievietēm un vīriešiem. Lietuvā sievietēm ordinē psihotropos līdzekļus pat 3,6 reizes vairāk nekā vīriešiem (5). Itālijā psihotropo zāļu patērētāju vidējais vecums ir daudz lielāks nekā Baltijas valstīs. Zāļu lietošana strauji pieaug vecumā no 61 līdz 70 gadiem, bet maksimumu sasniedz ap 80 gadu vecumu (7).

Analizējot slimību diagnožu kodus, noskaidrots, ka Rīgas aptiekās iesniegtajās psihotropo zāļu receptēs dominē diagnozes ar neirotiskiem, ar stresu saistītiem un somatoformiem traucējumiem.

Šis ir pirmais detalizētais pētījums par psihotropo vielu patēriņu Rīgā, datu ieguvei lietojot aptiekās iesniegto receptšu analīzi. Šāda metode precīzi parāda nopirkto medikamentu daudzumu, kas nav redzams pēc ārsta izrakstīto receptšu skaita, jo bieži vien cilvēki nenopērk izrakstītos medikamentus. Latvijā liela nozīme ir zāļu cenai. Tomēr pat šis pētījums tieši neparāda zāļu patēriņu, jo citās valstīs veiktās pacientu aptaujas atklāj, ka apmēram puse iegādāto zāļu netiek lietotas (4, 8). Ir izteikts pieņēmums, ka arī Latvijā mājāsaimniecībās ir uzkrājušās neizlietotas zāles.

Galvenais secinājums – Rīgā ambulatoro pacientu pārmērīgi liels psihotropo līdzekļu patēriņš nav novērots. Tas ir pat mazāks nekā citās ES valstīs.

Pateicība

Darbs veikts ar ESF grantu atbalstu (doktorantiem un jaunajiem zinātniekiem). Autori izsaka pateicību visu Rīgas aptieku darbiniekiem, kuri sniedza pētījumam nepieciešamos datus.

Literatūra

1. Alonso J., Angermeyer M. C., Bernert S., Bruffaerts R., Brugha T. S., Bryson H., de Girolamo G., Graaf R., Demyttenaere K., Gasquet I., Haro J. M., Katz S. J., Kessler R. C., Kovess V., Lépine J. P., Ormel J., Polidori G., Russo L. J., Vilagut G., Almansa J., Arbabzadeh-Bouchez S., Autonne J., Bernal M., Buist-Bouwman M. A., Codony M., Domingo-Salvany A., Ferrer M., Joo S. S., Martínez-Alonso M., Matschinger H., Mazzi F., Morgan Z., Morosini P., Palacín C., Romera B., Taub N., Vollebergh W. A. ESEMED/MHEDEA 2000 Investigators. Psychotropic drug utilization in Europe: results from the European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMED) Project. *Acta Psychiatr. Scand. Suppl.* 2004, 420, p. 55–64.
2. Bachmann C. S., Berg E. A., Spigset O., Slørdal L. Benzodiazepine-like hypnotics – attitudes and prescription practice among general practitioners. *Tidsskr. Nor. Laegeforen* 2008, 128, p. 166–170.
3. Bell J. S., Aaltonen S. E., Bronstein E., Desplenter F. A., Foulon V., Vitola A., Muceniece R., Gharat M. S., Volmer D., Airaksinen M. S., Chen T. F. Attitudes of pharmacy students toward people with mental disorders, a six country study. *Pharm. World Sci.* 2008, Mar 23. [E-publication ahead of print].
4. Haynes R. B., McKibbon A., Kanani R. Systematic review of randomised trials of interventions to assist patients to follow prescriptions for medications. *Lancet* 1996, 348, p. 383–386.
5. Jakimavičius M. Analysis of antidepressant prescribing tendencies in Lithuania in 2003–2004. *Kaunas: Medicina*, 2007, 43, p. 412–418.
6. Kessler R. C., Wittchen H. Patterns and Correlates of Generalized Anxiety Disorder in Community Samples. *J. Clin. Psychiatry* 2002, 63, p. 4–10.
7. Landi F., Onder G., Cesari M., Barillaro C., Russo A., Bernabei R. Silver Network Home Care Study Group. Psychotropic medications and risk for falls among community-dwelling frail older people: an observational study. *J. Gerontol. Biol. Sci. Med. Sci.* 2005, 60, p. 622–626.
8. Marinker M., Shaw J. Not to be taken as directed. *BMJ* 2003, 326, p. 348–349.
9. Ohayon M. M., Lader M. H. Use of psychotropic medication in the general population of France, Germany, Italy, and the United Kingdom. *J. Clin. Psychiatry* 2002, 63, p. 817–825.

10. Petitjean S., Ladewig D., Meier C. R., Amrein R., Wiesbeck G. A. Benzodiazepine prescribing to the Swiss adult population: results from a national survey of community pharmacies. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 2007, 5, p. 292–298.
11. Shapiro S. The epidemiological evaluation of drugs. *Acta Med. Scand.* 1982, 683 (Suppl.), p. 23–27.
12. Tómasson K., Tómasson H., Zoëga T., Sigfússon E., Helgason T. Epidemiology of psychotropic medication use: comparison of sales, prescriptions and survey data in Iceland. *Nord. J. Psychiatry* 2007, 61, p. 471–478.
13. Van Hulst R., Isacson D., Bakker A., Leufkens H. G. Comparing patterns of long-term benzodiazepine use between a Dutch and a Swedish community. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* 2003, 12, p. 49–53.
14. Van Hulst R., Leufkens H. G., Bakker A. Usage patterns of benzodiazepines in a Dutch community. A 10-year follow-up. *Pharm. World Sci.* 1998, 20, p. 78–80.
15. Virtanen M., Honkonen T., Kivimäki M., Ahola K., Vahtera J., Aromaa A., Lönnqvist J. Work stress, mental health and antidepressant medication findings from the Health 2000 study. *J. Affect Disord.* 2007, 98, p. 189–197.
16. Vrublevska K., Rukmane J., Burmistrs R., Sipols J., Muceniece R. Dispensing of psychotropic drugs to adults in community pharmacies in Latvia. *Pharm. World Sci.*, 2008, in press.
17. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. ATC/DDD version, January, 2005 (cited May 25, 2008). Available: URL: <http://www.whocc.no/atcddd/>.
18. Wittchen H. U., Jacobi F. Size and burden of mental disorders in Europe – a critical review and appraisal of 27 studies. *European Neuropsychopharmacology*, 2005, p. 357–376.

Summary

Every year the consumption of psychotropic drugs grows worldwide. Due to the side effects and development of dependence, the dispensing of psychotropic drugs is under strong control. The aim of the study was to get information about psychotropic drug use in outpatients during year 2007 by analyzing prescriptions of psychotropic drugs sold in 12 community pharmacies in Rīga. The obtained data show that 5% of all prescriptions are for psychotropic drugs, and that patients most often buy benzodiazepines. Women use psychotropic drugs two times more than men. General practitioners prescribe psychotropic drugs in 68% cases. In comparison with our previous study in Latgale, psychotropic drugs are not more used in Rīga; however, the most popular benzodiazepines were different. Physicians in Latgale most often prescribed diazepam – 12 defined daily doses (DDD) per 1000 inhabitants per day. In Rīga diazepam was much less used – 1.3 DDD/1000/day, but the most used drug was clonazepam, which reached 6 DDD/1000/day. The average use of psychotropic drugs was 24 DDD/1000/day; that is approximately the level of use in Denmark (30 DDD/1000/day), but less than in Finland, Switzerland, and the Netherlands, where it reaches 70–140 DDD/1000/day.

In comparison with the data of the Central Statistical Bureau of Latvia of year 2005, the data obtained from pharmacies in Rīga do not confirm the increase of the use of psychotropic drugs. However, the pattern of particular prescribed medicines is changed.

Keywords: psychotropic drugs, benzodiazepines, patient age, gender, drug use.

Dažādu specializēto šūnu Goldži kompleksa pārmaiņu morfofunkcionālais raksturojums

Structural and Functional Aspects of the Golgi Complex of Some Specialized Cell Types

Māra Kalniņa, Aina Dālmāne

LU Medicīnas fakultāte, Anatomijas un histoloģijas katedra
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001, e-pasts: mara.kalnina@lu.lv

Kopš Goldži kompleksa atklāšanas pirms 110 gadiem tā uzbūves un funkciju izziņāšanai ir veltīti daudzi zinātniski pētījumi. Šī darba mērķis ir ar citoloģiskām un histoloģiskām metodēm, izmantojot gaismas un elektronmikroskopu, pētīt Goldži kompleksa struktūras dažādās šūnās. Galvenais uzdevums – Goldži kompleksa novietojuma un formas pārmaiņu analīze saistībā ar šūnas funkcijas maiņām un dažādiem šūnu stāvokļiem – hipertrofiju, distrofiju, diferenciaciju un peridiferenciaciju. Pētījumā tika atrasta saistība starp šūnas funkcionālā stāvokļa maiņām un Goldži kompleksa līdzdalību šajos procesos.

Atslēgvārdi: somatiskās šūnas, dzimumšūnas, Goldži komplekss.

Ievads

Goldži komplekss (*aparto reticulare interno*) tika atklāts 1898. gadā un nosaukts tā atklājēja Kamillo Goldži (*Camillo Golgi*) vārdā (1). 20. gadsimta pirmās puses pētījumi nedeva īstu skaidrību par šī organoīda nozīmi, kaut arī tika izmantotas daudzas tā pierādīšanas metodes ar sudraba vai osmija sāļiem. Atklājās, ka Goldži komplekss ir mainīgs organoīds, sastopams dzīvnieku un augu šūnās. Bez minētām pierādīšanas metodēm to nekrāsotu var redzēt krāsotos mikropreparātos, ko R. Kahals (*Cajal*) 1908. gadā nosauca par Goldži kompleksa negatīvu. Pirmajos apkopojumos par Goldži kompleksu (2) aprakstīta tā pārvietošanās tirocītos, nefronu kanāliņu šūnās un prenameloblastos sakarā ar šūnas polarizācijas maiņu. Tomēr šī šūnas organoīda funkcionālā nozīme līdz galam vēl nebija izpētīta (3, 4).

Goldži kompleksa ultrastruktūras pētījumi kopā ar citām mūsdienīgām pētīšanas metodēm turpinājās 20. gadsimta otrajā pusē un 21. gadsimtā. Strauji tika atklāta Goldži kompleksa daudzveidīgo funkciju nozīme dažādās organisma šūnās, izņemot bezkodolainos eritrocītus un korneocītus, kur šī organoīda nav (5, 6).

Kļūva zināms, ka Goldži komplekss ir organoīds, kurā norit ne tikai vielu sintēze un transports, bet arī vielu šķirošana šūnai vai šūnstarpai. Goldži komplekss piedalās šūnas sekretoriskos procesos, kā arī plazmolemmas un tās virsstruktūras regulācijā. Īpaša Goldži kompleksa funkcija ir lizosomu veidošana. Šai sakarā nenovērtēta ir Goldži kompleksa dalība imūnkompetento šūnu funkcijās, kā arī tā loma patoloģiski izmainītās šūnās – reimatisma, hepatīta un pat kancerogēnēzes gadījumā (7, 8).

21. gadsimta imunoķīmiskie Goldži kompleksa pētījumi paplašina izpratni par Goldži kompleksa saistījumu ar endoplazmatisko tīklu un šūnas citoskeletu embriogēneses un ontoģēneses gaitā, kā arī dažādās patoloģiskās norisēs (9, 10).

Ir atklāts, ka centriolas savas funkcijas pilda jau agrīnā embriogēnēzē (11). Goldži kompleksa formēšanās diferencētās šūnās ne vienmēr topoloģiski ir saistīta ar šūnas centru. V. Susojeva un G. Onišenko (12) ir atraduši, ka peles hepatocītu agrīnās postnatālās diferenciacijas laikā rodas divu tipu hepatocīti: pirmajos ar centrosomu ir saistīts mikrotubuļu organizējošais centrs (MTOC), bet otrajos – tā vietā ir intermediāros diedziņus organizējošais centrs (IDOC) hepatocītu tālākai diferenciacijai. Goldži kompleksa komponentu atjaunošanās HeLa šūnu interfāzē ir saistīta ar endoplazmatisko tīklu (13).

Ir zināms arī, ka enameloblastos pirms emaljas veidošanās un zīdītāju olnīcu folikulos pirms likvora sintēzes novērota Goldži kompleksa pārvietošanās, kas saistīta ar šūnas funkcionālās aktivitātes pola pārmaiņām (14). Ovocītu Goldži kompleksa darbība ir līdzīga tādu šūnu Goldži kompleksa darbībai, kurām ir izteikta sekretorā funkcija. Atšķirība ir tā, ka zīdītāju un cilvēka ovocītos nav centriolu (15, 16, 17).

Nozīmīga ir arī Goldži kompleksa daļība akrosomas veidošanā spermatīdās (18, 19).

Joprojām nepilnīgi ir zināmas diferencēto somatisko šūnu un germinatīvo šūnu Goldži kompleksa atšķirības, šūnas genoma pārmaiņu ietekme uz Goldži kompleksu, kā arī dažādu šūnas funkcionālo stāvokļu korelācija ar Goldži kompleksa morfoloģiju.

Darba mērķis

Darba mērķis ir Goldži kompleksa novietojuma un tā strukturālo pārmaiņu analīze celulārā un subcelulārā līmenī dažādu audu diferencētās šūnās.

Materiāls un metodes

Par izpētes materiālu tika izmantota LU Anatomijas un histoloģijas katedras mikropreparātu kolekcija (195 paraugi). Tajos tika analizēti kuņģa un tievās zarnas epiteliocīti un glandulocīti, hepatocīti, tirocīti, enameloblasti, odontoblasti, zoba orgāna pulpcocīti, ciliārais epitēlijs, kuņģa, zarnu gļotādas un ciliārā ķermeņa fibroblasti, tuklās šūnas, plazmocīti, makrofāgi, eozinofilie leikocīti, limfocīti, endokrīnie kardiomiocīti, vistas un zīdītāju olnīcu ovocīti un folikulocīti.

Tika izmantotas gan zināmās Kolačeva–Nasonova, Rego (*Regaud*), Kahala, Šampī (*Champy*) metodes, gan autoru modificētā *Elftman* sudrabošanas metode kombinācijā ar PAS reakciju, kā arī diazoreakciju ar diazorozā. Goldži kompleksa negatīva pierādīšanai ultraplānie griezumī analizēti JEM 100C elektronmikroskopā.

Rezultāti

Tirocīti

Autoru pētījumi parāda, ka Goldži kompleksa novietojuma maiņa ir saistīta ar šūnas polaritātes maiņu. Tā novērota tirocītos, caur kuriem atbrīvotie hormoni (T3 un T4) nokļūst asinīs. Šajās šūnās Goldži komplekss no tirocīta virskodola daļas pārvietojas uz zemkodola daļu.

Folikulocīti

a) folikulocītu likvora sekrēcija

Vistas olnīcu folikulocītos dzeltenuma veidošanās laikā, kam raksturīga intensīva barības vielu ieplūšana caur folikulocītiem, var izsekot idiosomas novietojuma maiņai. Interesantus rezultātus deva Goldži kompleksa sudrabošanas metodes un PAS reakcijas apvienošana zīdītāju olnīcu folikulu pētījumos. Pirms likvora sekrēcijas sūnstarpā vairāku folikulocītu Goldži kompleksi pārvietojas uz to vietu, kurā no šūnām sūnstarpā izdalās likvora. Likvora sekrēcijas sākumā pie šo šūnu Goldži kompleksiem redzams PAS pozitīvs materiāls, kas no tām nokļūst sūnstarpā.

b) folikulocītu luteinizācija

Zīdītāju olnīcu folikulocītu luteinizācijas gadījumā pēc ovulācijas vai bez tās horija gonadotropo hormonu ietekmē norit līdzīgas Goldži kompleksa pārmaiņas. Goldži komplekss palielinās, veidojot groziņu ap kodolu. Diferencētā luteocītā Goldži komplekss kļūst neliels, un tas atrodas centriolu tuvumā. Pārmaiņas Goldži kompleksā luteinizācijas laikā norit vienlaikus ar izmaiņām diferencētas šūnas folikulocītu kodola struktūrā, kas mikroskopā konstatējamas kā heterohromatīna samazināšanās un eihromatīna palielināšanās.

c) folikulu atrēzija

Folikulu atrēzijas gadījumā noris pakāpeniska Goldži kompleksa izzušana ovocītā un folikulocītos.

Ovocīti

Zīdītāju ovocītos Goldži kompleksa pārvietošanās noris uz šūnas fizioloģiskās aktivitātes zonām, t. i., no dzeltenuma kodola (*nucleus vitellinus*) gredzenveidīgi ap kodolu un šūnas perifērijā.

Kuņģa un zarnu gļotādas epiteliocīti

Ļoti interesants modelis Goldži kompleksa pētījumiem ir kuņģa un zarnu gļotādas epitēlijs un dziedzeršūnas dažādās funkcionālās aktivitātes stadijās. Zarnu kriptu enterocītu sekrēts no Goldži kompleksa caur apikālo virsmu izdalās no šūnas. Šī procesa morfoloģiskās izpausmes spilgti var redzēt sudrabotos preparātos kombinācijā ar PAS reakciju. Izteiktas sekrēcijas gadījumā no Goldži kompleksa vakuolu membrānām veidojas koncentriski pinumi – mielīna figūras.

Sirds endokrīnie kardiomiocīti

Reimatisiskas izcelsmes mitrālās stenozes dēļ ir hipertrofēti sirds endokrīnie kardiomiocīti (EKM) kreisajā priekšambarī un kreisajā austiņā. Šādos EKM

hipertrofējas ne tikai miofibrillas, bet arī sekretorais aparāts – īpaši Goldži komplekss. Tas atrodas ne tikai ap centriolām, bet arī gredzenveidā ap kodolu (1. att.).

Ciliārais epitēlijs, zoba orgāna pulpcīti

Ciliārā epitēlija pigmentētām šūnām un zoba orgāna pulpcītiem atrasta krospstiņa, kuras bazālā graudiņa tuvumā ir novietots Goldži komplekss (2. att.).

Diskusija

Kaut arī ir daudz pētījumu, kas veltīti Goldži kompleksam, joprojām pilnīgi nav zināmas diferencēto somatisko šūnu un germinatīvo šūnu Goldži kompleksa atšķirības, kā arī šūnas genoma pārmaiņu ietekme uz Goldži kompleksu. Dažādās šūnās, kas tika pētītas darba gaitā, savstarpēji apvieno pārmaiņas Goldži kompleksā. Tika novērota visa kompleksa novietojuma maiņa vai arī tā elementu – diktiosomu – izmēra un izvietojuma pārmaiņas, kas korelēja ar šūnas funkcionālās aktivitātes pārmaiņām.

Visas pētītās šūnas apvieno to specializācija un aktīvs funkcionālais stāvoklis: enameloblastos – emaljas sintēze un tās nobriešana, ovocītos – dzeltenuma sintēze, dažādos enterocītos – ūdens, jonu, antibakteriālo vielu sintēze un bikarbonātu veidošana utt.

Enameloblastos notiek šūnas funkcionālā pola reversija. Šo procesu aizsāk signālmolekulas, kuras izdala zoba orgāna pulpcīti. Sekretējošiem enameloblastiem plazmatiskā membrānā ir dentīna ārpusšūnas matriksa receptori, kas informē tās par dentīna sintēzes sākšanos un ierosina emaljas olbaltumu sintēzi (20). Konstatēts, ka enameloblastos emaljas sekrēcijas laikā Goldži kompleksa cisternas pārvietojas uz šūnas izaugumu, tur tās izvietojas paralēli izauguma gareniskai asij, pamīšus ar endoplazmatiskā tīkla cisternām. Apkārt Goldži kompleksa cisternām izveidojas daudz pūslīšu un vakuolu. Daļa no tiem ar mikrotubuļu transporta sistēmām virzās uz emaljas un dentīna robežu, turpretī citi izdalās šūnstarpā.

Ir zināms, ka enameloblastu morfoloģija krasi mainās atkarībā no emaljas nobriešanas pakāpes. Tas konstatēts nobriešanu veicinošos enameloblastos. Šādos enameloblastos Tomesa stipri krokotos izaugumos Goldži komplekss pārvietojas tuvāk proksimālam šūnas galam. Multivezikulārie pūslīši un lizosomas gar mikrotubuļiem virzās uz distālo šūnas galu, kurā sakopojas daudz mitohondriju (14). Šādas pārmaiņas Goldži kompleksā saistāmas ar mineralizācijas procesu, ūdens un dažu olbaltumvielu (amelogenīns) reabsorbciju (21).

Odontoblastu pilnīgas diferenciācijas laikā īsi pirms dentīna sintēzes sākšanās Goldži kompleksā izveidojas izteiktas cisvirsmas un transvirsmas, kas liecina par intensīvu intracelulāro kolagēna sintēzi (20).

Folikulocītos pirms likvora sekrēcijas šūnstarpā vairāku folikulocītu Goldži kompleksi pārvietojas uz to vietu, kurā no šūnām šūnstarpā izdalās likvors. Likvora sekrēcijas sākumā pie šo šūnu Goldži kompleksiem redzams PAS pozitīvs materiāls, kas no tiem nokļūst šūnstarpā (17).

Folikulu atrēzijas gadījumā noris pakāpeniska Goldži kompleksa izzušana ovocītā un folikulocītos. Vispirms izzūd Goldži kompleksa lielās vakuolas, pēc tam šī organoīda mazie pūslīši un cisternas.

Zidītāju **olnīcu folikulocītu luteinizācijas** gadījumā pēc ovulācijas vai bez tās horija gonadotropo hormonu ietekmē norit līdzīgas Goldži kompleksa pārmaiņas. Organoīds palielinās un veido groziņu ap kodolu. Jau diferencētā luteocītā Goldži komplekss kļūst neliels un novietojas centriolu tuvumā. Šīs pārmaiņas ir saistāmas ar folikulocītu genoma pārkārtošanos un steroidā hormona progesterona sintēzi.

Visu dažādo folikulocītu Goldži kompleksa morfofunkcionālās pārmaiņas norisinās šūnai nozīmīgu funkcionālo stāvokļu maiņas gadījumā vai šūnas peridiferenciācijas situācijā. Literatūrā neizdevās atrast datus par Goldži kompleksa morfofunkcionālo pārmaiņu saistījumu ar šūnas peridiferenciāciju.

Autoru atradumos bieži minētā Goldži kompleksa novietojuma maiņa saskan ar literatūras datiem par eksperimentāli izraisītu organoīdu polaritātes maiņu. Eksperimentā asinsvadu endotelocītu gareniskā ass tika pagriezta par 180° (22). Šādos endotelocītos tika novērota citoskeleta arhitektūras un centriolu pozīcijas maiņa. Citoskeleta nozīme uz Goldži kompleksu neaprobežojas tikai ar ietekmi uz transporta funkcijām, bet tas ir iesaistīts arī pūslīšu un vezikulu veidošanā un Goldži kompleksa elementu unikālās formas saglabāšanā (23, 24).

Zarnu kriptās šūnas dalās un tiek bīdītas pa zarnu bārkstiņu uz tās virsotni, kur enterocītu dalīšanās vairs nenotiek. Enterocītiem virzoties pa bārkstiņu, Goldži kompleksā notiek glikozaminoglikānu sintēze un plazmolemmas virsstrukturū (glikokaliksa komponentu) veidošanās. Izveidotās pseidomielīna figūras liecina par intensīvu Goldži kompleksa darbību, ko novēro šūnu intensīvas darbības apstākļos vai šūnu stresa situācijās (25, 26).

Kreisā priekškambara un kreisās austiņas **endokrīnajos kardiomiocītos** mitrālās stenozes gadījumā Goldži kompleksā norit intensīva ātriju nātrija urētiskā peptīda (ANUP) granulu sekrēcija, kas no šūnas izdalās caur plazmolemmu un arī caur T kanāliem. Asinrites traucējumu dēļ sākas EKM hipertofija, kam seko apoptoze. Tās gaitā kopā ar citām šūnas pārmaiņām pakāpeniski izzūd Goldži kompleksa pūšļi un cisternas (27, 28, 29).

Zoba orgāna pulpcītos un ciliārā epitēlijā Goldži kompleksa rajonā atrastajai vienīgai skropstiņai ir sensora funkcija, līdzīgi kā tas ir augsti specializētām difūzās neiroendokrīnās sistēmas (DNES) un citām šūnām ar vienīgo skropstiņu (30, 31).

Apkopojot informāciju literatūrā un analizējot iegūtos rezultātus, jāsecina, ka veiktie pētījumi var paplašināt zināšanas par diferencēto somatisko šūnu un germinatīvo šūnu (ovocītu) Goldži kompleksa funkcionālo morfoloģiju.

Secinājumi

Autoru pētījumos par svarīgākajiem atradumiem var uzskatīt dinamiskās pārmaiņas Goldži kompleksā saistībā ar hipertrofiju, distrofiju un apoptozi endokrīnajos kardiomiocītos un konstatētās Goldži kompleksa pārvērtības olnīcu folikulu luteinizācijas gadījumā, šūnai peridiferencējoties. Jāatzīmē arī novērojumi par Goldži kompleksa dalību zarnu enterocītu sekrēcijas procesos un

tā morfofunkcionālās izmaiņas šūnu spriedzes gadījumos, kas izraisa pakāpenisku Goldži kompleksa un šūnas regresiju, kā arī Goldži kompleksa pārvietošanos folikulocītu likvora izdalīšanās virzienā uz šūnstarpu.

Literatūra

1. Golgi C. (1898) Structures des cellules nerveuses. *Arch. Ital. Biol.*, 30, 60.
2. Cowdry E. V. (1924) Cytological Constituents – Mitochondria, Golgi Apparatus and Chromidial Substance. In: *General Cytology*. The University of Chicago Press, 331–349.
3. Krause R. (1926) Golgische Methode. In: *Enzyklopädie der Mikroskopischen Technik Bd II*, Berlin: Verlag Urbau & Schwarzenberg, 909–944.
4. Hertwig G. (1929) Allgemeine mikroskopische Anatomie der lebenden Masse. Der Golgi Apparat. In: *Handbuch der mikroskopische Anatomie des Menschen I Teil*, Berlin: Verlag J. Springer, 255–287.
5. Sievers A. (1973) Golgi Apparat. In: *Grundlagen der Zytologie*. Jena: G. Fischer Verlag, 281–296.
6. Alberts B., Johanson A., Levis J., Raff M., Roberts K., Walter P. (2002) *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, 726–745.
7. Larsen T. H., Huitfeldt H. S., Myking O., Saetersdal T. (1993) Microtubule associated distribution of specific granules and secretion of atrial natriuretic factor in primary cultures of rat cardiomyocytes. *Cell Tis. Res.*, 272, 201–210.
8. Griffiths G., Fuller S. D., Back R., Hollinshead M., Pfeifer S., Simons K. (1989) The dynamic nature of the Golgi complex. *J. Cell Biol.*, 108 (2), 277–97.
9. Horstmann H., Ng C. P., Tang B. L., Hong W. (2002) Ultrastructural characterization of endoplasmic reticulum – Golgi transport containers (EGTC). *J. Cell Sci.*, 115 (22), 4263–73.
10. Dahan S., Anderson K. L., Weller S., Krueger E., McNiven M. A. (2005) Agonist-induced vesiculation of the Golgi apparatus in pancreatic acinar cells. *Gastroenterology*, 129 (6), 2032–46.
11. Onishchenko G. E. (2000) Transformations of the Cell Center during Cell Differentiation. *Rus. J. Develop. Biol.*, 31 (6), 377–387.
12. Sysoeva V., Onishchenko G., (2006) Centrosome and Golgi complex during differentiation of hepatocytes in early postnatal development of mice. *Rus. J. Develop. Biol.*, 37 (3), 163–172.
13. Jollivet F., Raposo G., Dimitrov A., Goud B., Perez F. (2007) Analysis of de novo Golgi complex formation after enzyme-based inactivation. *Mol. Biol. Cell.*, 18 (11), 4637–47.
14. Королева О. (1986) Пренатальный гистогенез зубочелюстной системы и его гормональная регуляция. *Изв. АН ЛатвССР*, 462 (1), 110–117.
15. Далмане А. Р. (1967) Изменения в овоцитах млекопитающих при нормальном росте фолликула, атрезии и ановуляторной лютеинизации. В: *Морфологические и химические изменения в процессе развития клетки*. Зинатне. Рига, 43–64.
16. Далмане А. Р. (1967) Функциональная морфология яичников млекопитающих. *Докт. дисс.* Рига, 1–513.
17. Dalmanc A. R. (1970) The role of physiologically active zones in the growing oocyte. In: *IX International Congress of Anatomists*. Leningrad, 48–49.

18. Söderström K. O., Parvinen M. (1976) Transport of material between the nucleus, the chromatoid body and the Golgi complex in the early spermatids of the rat. *Cell Tiss. Res.* 168 (3), 335–342.
19. Sinha Hikim A. P., Lue Y. H., Wang C., Swerdloff R. S. (1999) Spermatogenesis and Germ Cell Death. In: *Male Reproductive Function* (5), Springer US, 19–39.
20. Moreno R. D., Ramalho-Santos J., Sutovsky P., Chan E. K. L., Schatten G. (2000) Vesicular Traffic and Golgi Apparatus Dynamics During Mammalian Spermatogenesis: Implications for Acrosome Architecture. *Biol. Reprod.*, 63 (1), 89–98.
21. Berkovitz B. K. B., Holland G. R., Moxham B. J. (1995) *A Color Atlas and Text of Oral Anatomy, Histology and Embriology*. Mosby-Wolfe, London, 258–269.
22. Williams P. L. (ed.) (1995) *Gray's Anatomy*, Churchill, Livingstone, New York, 122–125, 127–129, 1712–1716 .
23. Rogers K. A., McKee N. H., Kalnins V. I. (1985) Preferential Orientation of Centrioles toward the Heart in Endothelial Cells of Major Blood Vessels is Reestablished after Reversal of a Segment. *PNAS* 82 (10), 3237–3276.
24. Murshid A., Presley J. F. (2004) ER-to-Golgi transport and cytoskeletal interactions in animal cells. *CMLS* 61 (2), 133–145.
25. Калниня М. Э. (1974) Морфологические изменения слизистой оболочки тощей кишки у больных язвенной болезнью. *Канд. дисс.*, Рига, 1–183.
26. Далмане А., Королёва О., Калниня М. (1982) Псейдомиелиновые фигуры мембранных компонентов клетки в норме и патологии. *Тезисы докл. III Всесоюзной конф. по патологии клетки*. Москва, 54–55.
27. Egea G., Lazaro-Dieguez F., Vilella M. (2006) Actin dynamics at the Golgi complex in mammalian cells. *Curr Opin. Cell Biol.* 18 (2), 168–78.
28. Dalmāne A., Kalnina M., Kukaine S. (2005) Functional morphology of human endocrine cardiomyocytes. *Esti Arst Tartu.* 6, 53–55.
29. Rudzite V., Dalmāne A., Sileniece G., Jurika E. (1993) Kynurenine and cell. In: *Book of abstracts, 22nd Meeting of the Federation of European Biochemical Societies*. Stockholm, Sweden, 80–81.
30. Далмане А. Р., Королева О. Н. (1980) Ультраструктура одиночных ресничек одонтобластов. *Арх. анат.*, 4, 92–97.
31. Reiter J. F., Mostov K. (2006) Vesicle transport, cilium formation, and membrane specialization: The origins of a sensory organelle. *PNAS* 103 (49), 18383–84.

Summary

The Golgi complex was named after its discoverer Camillo Golgi. Since the discovery of the Golgi complex in 1898, a hundred and ten years have been devoted to scientific research of this obligatory cell organelle.

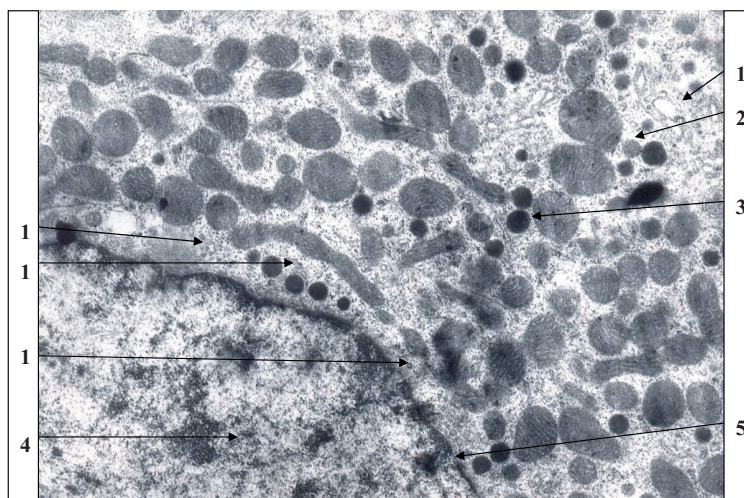
We have followed several differentiated morphological criteria of cell functional activity that include the changes within the Golgi complex as they have become evident with the use of the cytological and cytochemical methods, light microscope, or electron microscopy. The specifics of the structure of the Golgi complex and its location are related to the functional morphology of the particular cell; therefore, the Golgi body structure of different cells is not unified. In the epigenetic inheritance, the Golgi complex is passed on from mothers' cells to daughters' cells and remains identical. In the differentiated

cells, the functional morphology of the Golgi complex is changeable and depends on the function as well as the occurrences of its hypertrophy or dystrophy.

We observed enlargement of the Golgi complex in thyrocytes and in the folliculocytes of chicken ovaries. Changes of the Golgi complex are noted in the mammalian folliculocytes during the luteinization phase. The arrangement of the Golgi complex in folliculocytes is small, while during the luteinization phase the Golgi complex is enlarged and forms a basket type of appearance around the nucleus.

In the case of rheumatic fever-caused mitral valve stenosis, endocrine cardiomyocytes (ECM) have hypertrophy. In these situations, the Golgi complex intensively secretes natriuretic peptide. Due to the lack of homeostasis and poor blood circulation, hypertrophic ECM apoptosis begins, which leads to gradual cellular changes and disappearance of the vesicles and cisterns of the Golgi complex.

Keywords: somatic cells, germinative cells, Golgi complex.

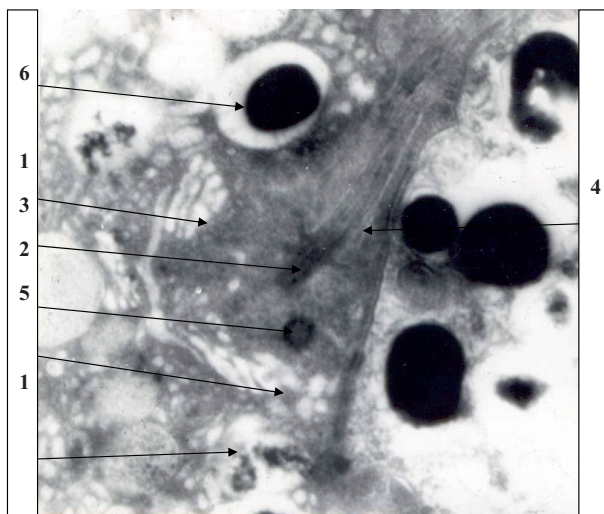


1. attēls. Endokrīnā kardiomiocīta fragments

1. Goldži komplekss
2. Jauna ANUP (ātriju nātrija urētiskais peptīds) granula
3. Nobriedusi ANUP granula
4. Kodols
5. Kodola apvalka pora

Figure 1. Fragment of the endocrine cardiomyocyte (ECM)

1. The Golgy complex
2. Newly formed granule containing natriuretic peptide
3. Mature granule
4. Nucleus
5. Nuclear pore



2. attēls. Ciliārā epitēlija pigmentēto šūnu fragmenti

1. Goldži komplekss
2. Skropstiņas bazālais graudiņš
3. MTOC (mikrotubuļu organizējošais centrs)
4. Skropstiņa šūnstarpā
5. Centriola
6. Pigmenta granula

Figure 2. *Fragments of the ciliar pigmented epitheliocyte*

1. The Golgy complex
2. The basal body of cilia
3. Microtubule organizing centre
4. Cilia inside of the intercellular space
5. Centriole
6. Pigment granule

Pusaudžu un jauniešu vecuma riteņbraucēju izturības spēju salīdzinājums

Comparison of Endurance in Adolescent and Young Road Cyclists

Inese Pontaga¹, Maija Dzintare^{1,2}, Andris Konrads¹

¹Latvijas Sporta pedagogijas akadēmija, Brīvības gatve 333, Rīga, LV-1006
E-pasts: inese.pontaga@lspa.lv

²Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001

Šosejas riteņbraucēju izturību nosaka viņu aerobās darbības spējas un darba lietderības koeficients. Šī pētījuma mērķis ir salīdzināt pusaudžu un jauniešu vecuma riteņbraucēju izturības spējas pēc aerobās slodzes testa rezultātiem.

Pētījumā piedalījās Latvijas jaunie riteņbraucēji. Viņi veica pieaugošas intensitātes submaksimālas aerobās slodzes testu. Gāzu maiņas rādītāju mērīšanai un elektrokardiogrammas reģistrācijai tika izmantota kardiopulmonālās diagnostikas iekārta. Pienskābes koncentrācija kapilārā asinīs tika noteikta ar speciālu laktātu analizatoru.

Slodzes jauda un darba lietderības koeficients, sasniedzot anaerobo sliekšni, bija ticami lielāki jauniešu vecuma riteņbraucējiem nekā pusaudžiem, bet sirdsdarbības frekvence bija ticami zemāka vecākajā atlētu grupā. Relatīvais skābekļa patēriņš bija vienāds pusaudžu un jauniešu vecuma riteņbraucējiem.

Atslēgvārdi: aerobās darbības spējas, izturība, aerobais sliekšnis, anaerobais sliekšnis, slodzes tests, riteņbraucēji.

Ievads

Šosejas riteņbraukšana pieder pie izturības sporta veidiem. Riteņbraukšanā ļoti svarīgs panākumu gūšanas nosacījums ir augstas atlētu aerobās darbības spējas.

Atlētu izturību nosaka organisma aerobo darbības spēju rādītāji: skābekļa patēriņš un veicamā darba jauda aerobā un anaerobā sliekšņu slodzēs, sirds minūtes tilpums un sirdsdarbības frekvence slodzē u. c. Pieaugušiem amatieru līmeņa atlētiem ir novērojama cieša korelācija starp viņu aerobajām darbības spējām un rezultātu izturības slodzēs (15). Itāļu autori (7) ir noteikuši, ka anaerobā sliekšņa slodzes jauda ir labs riteņbraucēju darbības spēju rādītājs: starp riteņbraukšanas trases veikšanas laiku un aerobo darbības spēju rādītājiem ir ticama korelācija (korelācijas koeficients variē no -0,68 līdz -0,94; $p < 0,05$). Arī citos izturības sporta veidos, piemēram, maratonā, pastāv cieša korelācija starp rezultātu un anaerobās maiņas sliekšņa slodzi, kur korelācijas koeficients starp šiem rādītājiem ir no -0,88 līdz -0,99 (17).

Elitāra līmeņa izturības sporta veidu pārstāvjiem ciešā sakarība starp aerobajām darbības spējām un rezultātiem izzūd. Augsti aerobo darbības spēju rādītāji kā priekšnosacījums rezultātu sasniegšanai, neapšaubāmi, ir visiem šiem atlētiem. Tāpēc iespējas

uzvarēt nosaka cits faktors – viņu kustību ekonomija, t. i., spējas veikt distanci lielā ātrumā ar mazāku skābekļa patēriņu (6, 8, 15).

Lai panāktu atbilstošu sirds un asinsrites, kā arī elpošanas sistēmu attīstību, izturības treniņi ir jāsāk jau pusaudžu vecumā. Orgānu sistēmu attīstību pusaudžiem nosaka gan trenēšanās noteiktā sporta veidā, gan arī atlēta augšana un ķermeņa masas palielināšanās.

Augšanas dēļ bērnu un pusaudžu vecumā izturības novērtēšanā ir ierobežots pieaugušu atlētu aerobo darbību rādītāju izmantojums. Piemēram, relatīvais skābekļa maksimālais patēriņš zēniem, kas trenējas kādā sporta veidā, bērnu un pusaudžu vecumā no 6 līdz 16 gadiem saglabājas nemainīgs ap 52 ml/kg·min (11). Tas nozīmē, ka skābekļa patēriņa noteikšana slodzes testu laikā tik labi neraksturo pusaudžu izturību kā pieaugušiem riteņbraucējiem. Absolūtais maksimālais skābekļa patēriņš pusaudžiem palielinās līdz ar ķermeņa masas pieaugumu augšanas procesā – arī tiem, kas netrenējas. Iespējas attīstīt izturību (aerobo jaudu, t. sk. skābekļa maksimālo patēriņu) lielā mērā (par 40–60%) nosaka ģenētiski faktori (2).

Vispārējās izturības uzlabošanās pusaudžu vecumā notiek citu faktoru izmaiņu dēļ, neņemot vērā skābekļa maksimālā patēriņa izmaiņas. Te pieder sporta veidam specifisko kustību iemaņu jeb kustību tehnikas uzlabošanās, kas noteic kustību ekonomijas uzlabošanos (mazāks enerģijas patēriņš, izpildot kustības, pieaugot kustību precizitātei).

Šī pētījuma mērķis ir salīdzināt 14–15 un 16–17 gadus vecu riteņbraucēju izturības spējas pēc aerobās slodzes testa rezultātiem.

Metodika

Pētījumā brīvprātīgi piedalījās 24 Latvijas izlases tuvāko rezervju riteņbraucēji vīrieši 14–15 gadu vecumā (11 cilvēki) un 16–17 gadu vecumā (13 cilvēki). Viņiem tika veiktas regulāras aerobo darbību pārbaudes Latvijas Olimpiskās vienības laboratorijā. Diviem riteņbraucējiem pārbaude tika veikta piecas reizes, trijiem – četras reizes, pieciem – trīs reizes, diviem – divas reizes, bet četriem riteņbraucējiem – tikai vienu reizi.

Vidējais augums 14–15 gadus vecu riteņbraucēju grupā bija 181 ± 6 cm, bet 16–17 gadus veciem atlētiem – 183 ± 6 cm, atšķirība starp abu vecuma grupu rādītājiem nav statistiski ticama ($p > 0,05$). Vidējā ķermeņa masa pusaudžu vecuma riteņbraucējiem $65,8 \pm 6,9$ kg bija statistiski ticami mazāka nekā jauniešu vecuma atlētiem $71,1 \pm 5,6$ kg ($p < 0,007$). Abu vecuma grupu vidējie ķermeņa masas indeksa rādītāji statistiski ticami neatšķirās: 14–15 gadus veciem riteņbraucējiem $20,3 \pm 1,7$ kg/m², bet 16–17 gadus veciem sportistiem – $21,2 \pm 1,2$ kg/m² ($p > 0,05$).

Katrs riteņbraucējs veica pakāpeniski pieaugošu slodzi uz mehāniskā veloergometra (“Monark”, Zviedrija) līdz spēku izsīkumam. Slodzes intensitāte sākotnēji bija 27 W, tad tā tika palielināta ik pa divām minūtēm par 12 W. Skābekļa patēriņa maksimumu vairums atlētu nesasniedza. Veicot slodzi, ar kardiopulmonālās diagnostikas iekārtu “Oxygen Mobile Via Sys” (Via Sys Healthcare GMBH, Vācija) tika reģistrēta elektrokardiogramma, sirds darbības frekvence un gāzu maiņas rādītāji (patērētā skābekļa tilpums, izelpotās ogļskābās gāzes tilpums, plaušu ventilācija,

elpošanas koeficients). Aerobās darbības tika izvērtētas pēc aerobā sliekšņa slodzes intensitātes, kurā pienskābes līmenis kapilārajās asinīs sāk paaugstināties virs miera stāvokļa līmeņa par 1 milimolu litrā. Sakarībā starp veloergometriskās slodzes jaudu un pienskābes koncentrāciju asinīs ir redzams lūzuma punkts (1, 4, 9).

Tika noteikts anaerobais sliekšnis slodzes intensitātē, kurā pienskābes līmenis asinīs paaugstinās virs 4 milimoliem litrā. Sakarībā starp veloergometriskās slodzes jaudu un pienskābes koncentrāciju asinīs ir redzams lūzuma punkts ar strauju pienskābes līmeņa paaugstināšanos asinīs slodzēs ar intensitāti virs anaerobā sliekšņa (10, 16).

Pienskābes koncentrācija kapilārajās asinīs tika noteikta ar ekspresdiagnostikas metodi, izmantojot speciālus laktāta analizatorus "Biosen 5030" (*EKF – diagnostic*, Vācija). Pienskābes līmenis kapilārajās asinīs tika noteikts ik divas minūtes.

Pēc gāzu maiņas rādītājiem (patērētā O_2 tilpuma un elpošanas koeficienta EK), izmantojot tabulu ar skābekļa enerģētisko ekvivalentu pie noteiktām EK vērtībām (13), aprēķināts, kāds ir katra riteņbraucēja enerģijas patēriņš džoulos (J) vienā minūtē ar noteiktu intensitāti (aerobās, anaerobās maiņas sliekšņu) veicamā slodzē. Enerģijas patēriņš J pārrēķināts vienā sekundē (t. i., vatos W). Noteikts, cik procentu no enerģijas patēriņa katrs riteņbraucējs izmanto mehāniskā darba veikšanai uz veloergometra (veicamā darba jauda testā W ir zināma). Tas ir riteņbraucēja veiktā darba lietderības koeficients.

Aprēķinātas katra izturības spēju raksturlieluma vidējā aritmētiskā un standartnovirzes vērtības abām riteņbraucēju vecuma grupām (14–15 un 16–17 gadus veciem atlētiem). Atšķirību ticamība starp pusaudžu (14–15 gadi) un jauniešu (16–17 gadi) riteņbraucēju grupu vidējiem rādītājiem noteikta, izmantojot Stjudenta kritēriju nesaisītām kopām. Atšķirība uzskatīta par ticamu, ja $p < 0,05$.

Rezultāti

Aerobā sliekšņa darba jaudai uz veloergometra ir tendence paaugstināties līdz ar atlēta vecumu un treniņu stāžu, tomēr atšķirība starp vidējo jaudu 14–15 un 16–17 gadus vecu riteņbraucēju vecuma grupās nav statistiski ticama ($p > 0,05$) (1. tabula). Relatīvā jauda, t. i., veloergometra jauda, dalīta ar ķermeņa masu, ir līdzīga abās riteņbraucēju grupās. Veloergometra slodzes darba lietderības koeficients abās riteņbraucēju grupās statistiski ticami neatšķiras ($p > 0,05$).

Anaerobā sliekšņa slodzē 16–17 gadus veci riteņbraucēji spēj attīstīt ticami lielāku veicamā darba jaudu uz veloergometra nekā 14–15 gadus veci atlēti ($p < 0,006$) (1. tabula). Relatīvā darba jauda ticami neatšķiras abās riteņbraucēju grupās ($p > 0,05$). Palielinoties jauno riteņbraucēju vecumam un treniņu stāžam, ticami pieaug uz veloergometra veicamā darba lietderības koeficients: 14–15 gadus veciem riteņbraucējiem tas ir $20,7 \pm 0,7\%$, bet 16–17 gadus veciem – $21,6 \pm 1,0\%$ ($p < 0,001$).

Aerobā sliekšņa slodzē absolūtā un relatīvā skābekļa patēriņa rādītāji 14–15 un 16–17 gadus vecu riteņbraucēju grupās ticami neatšķiras ($p > 0,05$) (2. tabula). Vienīgais rādītājs, kas statistiski ticami atšķiras 14–15 un 16–17 gadus veciem riteņbraucējiem aerobā sliekšņa intensitātes slodzē, ir sirdsdarbības frekvence:

14–15 gadus veciem riteņbraucējiem tā ir 129 ± 9 sit./min, bet 16–17 gadus veciem – 122 ± 7 sit./min ($p < 0,02$).

1. tabula

Vidējā veloergometra darba jauda un darba lietderības koeficients pusaudžu un jauniešu vecuma riteņbraucējiem aerobās (AeS) un anaerobās maiņas (AnS) sliekšņu slodzēs

Average workload and mechanical efficiency of work in adolescent and young cyclists at aerobic (AeT) and anaerobic (AnT) threshold intensity loads

Vecums, gados	Absolūtā veloergometriskā slodzes jauda, W		Relatīvā veloergometriskā slodzes jauda, W		Darba lietderības koeficients,%	
	AeS	AnS	AeS	AnS	AeS	AnS
14–15	136 ± 27	234 ± 28	$2,07 \pm 0,37$	$3,56 \pm 0,24$	$19,3 \pm 1,5$	$20,7 \pm 0,7$
16–17	149 ± 38	260 ± 30	$2,08 \pm 0,46$	$3,65 \pm 0,28$	$20,0 \pm 2,1$	$21,6 \pm 1,0$
Atšķirību ticamība	Nav ticama $p > 0,05$	Ticama $p < 0,006$	Nav ticama $p > 0,05$	Nav ticama $p > 0,05$	Nav ticama $p > 0,05$	Ticama $p < 0,001$

Anaerobā sliekšņa slodzē ir konstatētas ticamas atšķirības starp vairākiem 14–15 un 16–17 gadus vecu riteņbraucēju aerobo darbību rādītājiem: 16–17 gadus veciem riteņbraucējiem ir ticami lielāks absolūtais skābekļa patēriņš ($p < 0,05$) un mazāka sirdsdarbības frekvence ($p < 0,01$) (2. tabula). Relatīvā skābekļa patēriņa rādītāji (ml uz 1 kg ķermeņa masas minūtē) ir līdzīgi abās vecuma grupās (14–15 g. v.: 49 ± 4 ml/kg·min un 16–17 g. v.: 48 ± 3 ml/kg·min).

2. tabula

Vidējie skābekļa patēriņa un sirdsdarbības frekvences rādītāji pusaudžu un jauniešu vecuma riteņbraucējiem aerobās (AeS) un anaerobās maiņas (AnS) sliekšņu slodzēs

Average oxygen uptake and heart rate in adolescent and young cyclists at aerobic (AeT) and anaerobic (AnT) threshold intensity loads

Vecums, gados	Absolūtais skābekļa patēriņš, l/min		Relatīvais skābekļa patēriņš, ml/ kg·min		Sirdsdarbības frekvence, sit./min	
	AeS	AnS	AeS	AnS	AeS	AnS
14–15	$2,03 \pm 0,30$	$3,19 \pm 0,38$	31 ± 4	49 ± 4	129 ± 9	169 ± 8
16–17	$2,13 \pm 0,41$	$3,43 \pm 0,39$	30 ± 4	48 ± 3	122 ± 7	163 ± 7
Atšķirību ticamība	Nav ticama $p > 0,05$	Ticama $p < 0,05$	Nav ticama $p > 0,05$	Nav ticama $p > 0,05$	Ticama $p < 0,02$	Ticama $p < 0,001$

Diskusija

Pusaudžu vecumā palielinās jauno atlētu augums un ķermeņa masa, tāpēc ir grūti atšķirt, vai aerobo darbību pieaugums ir radies augšanas procesa vai treniņu ietekmē. Latvijas jauno riteņbraucēju vidējie auguma un ķermeņa masas indeksa rādītāji 14–15 un 16–17 gadus vecu atlētu grupās statistiski ticami neatšķiras ($p > 0,05$). 16 līdz 17 gadus vecu riteņbraucēju vidējā ķermeņa masa ($71,1 \pm 5,6$ kg) ir ticami lielāka nekā 14–15 gadus vecu riteņbraucēju grupā ($65 \pm 6,9$ kg) ($p < 0,007$). Ar lielāku ķermeņa masu var izskaidrot statistiski ticami lielāku skābekļa patēriņu anaerobā sliekšņa slodzē 16–17 gadus veciem riteņbraucējiem ($3,43 \pm 0,39$ l/min) salīdzinājumā ar 14–15 gadus vecu atlētu vidējo skābekļa patēriņa rādītāju ($3,19 \pm 0,38$ l/min) ($p < 0,05$). Tomēr relatīvais skābekļa patēriņš gan aerobās, gan

anaerobās maiņas sliekšņa slodzē, kā arī absolūtais skābekļa patēriņš aerobās maiņas sliekšņa slodzē ticami neatšķiras abās riteņbraucēju vecumu grupās. Pēc amerikāņu autoru datiem (11), bērnu un pusaudžu vecumā skābekļa patēriņu un tā izmaiņas dinamikā nevar uzskatīt par izturības spēju rādītāju, jo skābekļa maksimālais patēriņš vecumā no sešiem līdz 16 gadiem zēniem saglabājas nemainīgs.

Salīdzinot 14–15 un 16–17 gadus vecu riteņbraucēju sirdsdarbības frekvenci aerobās un anaerobās maiņas sliekšņu intensitātes slodzēs, var konstatēt tās ticamu pazemināšanos (vidēji par 7 sitieniem minūtē, $p < 0,01$). To var izskaidrot ar sirds sistoles tilpuma palielināšanos, trenējoties riteņbraukšanā kā izturības sporta veidā (14). Izturības sporta veidu pārstāvjiem palielinās asins plazmas tilpums salīdzinājumā ar netrenētiem cilvēkiem, spēka un ātrspēka sporta veidu pārstāvjiem. Tam pieaugot par 1%, par 1% samazinās sirdsdarbības frekvence, jo palielinās sirds sistoles tilpums (3). Sirdsdarbības frekvence pazeminās arī netrenētiem pusaudžiem un jauniešiem, palielinoties viņu vecumam. Piemēram, maksimālo sirdsdarbības frekvenci ($SF_{maks.}$) atkarībā no cilvēka vecuma var aprēķināt pēc formulas (13):

$$SF_{maks.} = 220 - \text{vecums (gados); sitieni minūtē.}$$

Tas nozīmē, ka $SF_{maks.}$ pazeminās par vienu sitienu minūtē gada laikā. Līdzīgi izmainās arī aerobās un anaerobās maiņas sliekšņu sirdsdarbības frekvence (lineāri pazeminās, palielinoties cilvēka vecumam). Tā kā starp abām riteņbraucēju grupām vecumu atšķirība ir divi gadi, tad vecākajā grupā sirdsdarbības frekvencei būtu jābūt par 2–3 sitieniem minūtē lēnākai nekā jaunākajā grupā. Šajā gadījumā atšķirība starp abu vecumu riteņbraucēju grupu sirdsdarbības frekvencēm slodzēs ir lielāka – vidēji par septiņiem sitieniem minūtē, ko var izskaidrot ar trenēšanos riteņbraukšanā.

Veicamā darba lietderības koeficients raksturo mehāniskā darba efektivitāti uz veloergometra. Pusaudžu vecumā notiek ekstremitāšu augšana garumā, treniņu ietekmē uzlabojas kustību precizitāte, tāpēc darba lietderības koeficientam būtu jāpalielinās. Pēc austrāliešu pētnieku datiem (5), darba lietderības koeficients visvairāk pieaug tieši tajā slodzes intensitātē, kas ir raksturīga attiecīgajam sporta veidam sacensību un treniņu laikā. Riteņbraucējiem tā ir anaerobās maiņas sliekšņa intensitātes slodze, kurā 16–17 gadu vecumā darba lietderības koeficients ($21,6 \pm 1,0\%$) ir ticami augstāks nekā 14–15 gadus veciem riteņbraucējiem ($20,7 \pm 0,7\%$) ($p < 0,001$).

Veicamās slodzes jaudu nosaka gan riteņbraucēju aerobās darbības, gan arī darba veikšanas lietderības koeficients. Izturību raksturojošo fizioloģisko rādītāju palielināšanās treniņu ietekmē visvairāk notiek sporta veidam specifiskajā slodzes intensitātē (slodzes intensitātē, kura ir pārsvarā sacensību un treniņu laikā noteiktā sporta veidā, šajā gadījumā – šosejas riteņbraukšanā). Latvijas jaunajiem riteņbraucējiem anaerobās maiņas sliekšņa intensitātes slodzē 16–17 gadu vecumā ir ticami lielāka veloergometra darba jauda (260 ± 30 W) nekā 14–15 gadu vecumā (234 ± 28 W) ($p < 0,006$). Dalot veicamā darba jaudu uz veloergometra ar atlēta ķermeņa masu (aprēķinot veiktā darba jaudu uz vienu kilogramu ķermeņa masas), atšķirības starp abām riteņbraucēju grupām nav statistiski ticamas, $p > 0,05$ (14–15 gadus veciem atlētiem tā ir $3,56 \pm 0,24$ W/kg, bet 16–17 gadus veciem: $3,65 \pm 0,28$ W/kg). Pēc itāļu pētnieku datiem (12), veloergometra darba jaudas rādītāji anaerobās maiņas sliekšņa slodzē pusaudžu vecuma ($15,5 \pm 5$ gadi) riteņbraucējiem vīriešiem ir šādi: absolūtā darba jauda uz veloergometra 213 ± 29 W un relatīvā jauda $3,52 \pm 0,33$ W/kg,

bet jauniešiem ($17,7 \pm 0,5$ gadi) šie rādītāji attiecīgi ir 247 ± 32 W un $3,79 \pm 0,41$ W/kg. Absolūtie jaudas rādītāji gan pusaudžiem, gan jauniešiem ir nedaudz zemāki nekā tāda paša vecuma latviešu jaunajiem riteņbraucējiem. Atšķirības var izskaidrot ar itāļu riteņbraucēju mazāku ķermeņa masu (abās vecumu grupās itāļu riteņbraucēju ķermeņa masa ir vidēji par 5 kg mazāka nekā latviešu atlētiem). Attiecinot veloergometra darba jaudu pret ķermeņa masu, tā ir līdzīga itāļu un latviešu riteņbraucējiem.

Secinājumi

1. Anaerobā sliekšņa slodzē 16–17 gadus veci riteņbraucēji attīsta ticami lielāku absolūto veloergometra slodzes jaudu (260 ± 30 W) salīdzinājumā ar 14–15 gadus vecu atlētu grupu (234 ± 28 W) ($p < 0,006$).

2. Anaerobā sliekšņa slodzē ir konstatēts statistiski ticami augstāks riteņbraucēju veloergometra darba lietderības koeficients 16–17 gadu vecumā ($21,6 \pm 1,0\%$) nekā 14–15 gadus veciem riteņbraucējiem ($20,7 \pm 0,7\%$) ($p < 0,001$).

3. Salīdzinot 14–15 un 16–17 gadus vecu riteņbraucēju sirdsdarbības frekvenci aerobās un anaerobās maiņas sliekšņu slodzēs, var konstatēt, ka tā ir ticami zemāka (vidēji par 7 sitieniem minūtē) vecākajā atlētu grupā ($p < 0,01$). Tas varētu būt saistīts ar sirds sistoles tilpuma palielināšanos, trenējoties riteņbraukšanā.

4. Skābekļa patēriņa relatīvie rādītāji ticami neatšķiras 14–15 un 16–17 gadus vecu riteņbraucēju grupās. To var saistīt ar vecuma īpatnībām: organisma augšanu, nevis treniņu iedarbības efektu.

Pateicība

Autori izsaka pateicību sporta ārstei *Dr. Dignai Jukmanei* un Latvijas Olimpiskās vienības laboratorijas kolektīvam par Latvijas izlases un tās rezervju riteņbraucēju darbspēju noteikšanu.

Literatūra

1. Beaver W. L., Wasserman K., Whip B. J. Improved detection of lactate threshold during exercise using log-log transformation. *Journal of Applied Physiology*, 1985, vol. 59, p. 1936–1940.
2. Bielen E., Fagard R., Amery A. Inheritance of heart structure and physical exercise capacity: A study of left ventricular structure and exercise capacity in 7-year old twins. *European Heart Journal*, 1990, vol. 11, p. 7–16.
3. Convertino V. A. Blood volume: its adaptation to endurance training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1991, vol. 23, p. 1338–1348.
4. Coyle E. F. Integration of the physiological factors determining endurance performance ability. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 1995, vol. 23, p. 25–63.
5. Craig N. P., Norton K. I., Bourdon P. C., Woolford S. M., Stanef T., Squires B., Olds T. S., Conyers R. A. J., Walsh C. B. V. Aerobic and anaerobic indices contributing to track endurance cycling performance. *European Journal of Applied Physiology*, 1993, vol. 67, p. 150–158.

6. Franch J., Madsen K., Djurhuus M. S., Pedersen P. K. Improved running economy following intensified training correlates with reduced ventilatory demands. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1998, vol. 30, p. 1250–1256.
7. Impellizzeri F. M., Rampinini E., Sassi A., Moqnoni P., Marcora S. Physiological correlates to off-road cycling performance. *Journal of Sport Sciences*, 2005, vol. 23, p. 41–47.
8. Ingham S. A., Whyte G. P., Jones K., Nevill A. M. Determinants of 2000 m rowing ergometer performance in elite rowers. *European Journal of Applied Physiology*, 2002, vol. 88, p. 243–246.
9. Ivy J. L., Withers R. T., van Handel P. J., Elger D. H., Costill D. L. Muscle respiratory capacity and fiber type as determinants of the lactate threshold. *Journal of Applied Physiology*, 1980, vol. 48, p. 523–527.
10. Kinderman W., Simon G., Keul J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of workload intensities during endurance training. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 1979, vol. 42, p. 25–34.
11. Krahenbuhl G. S., Skinner J. S., Kohrt W. M. Developmental aspects of maximal aerobic power in children. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 1985, vol. 13. Terjung R. L. (ed.) New York: Macmillan, p. 503–538.
12. Marcello F., Scarpellini E., Broccardo D., Galvani C. Road cyclists' physiological qualities. Abstracts of the 12th Annual Congress of the European College of Sport Science, 2007, Jyväskylä, Finland, p. 277.
13. McArdle W. D., Katch F. I., Katch V. L. *Essentials of Exercise Physiology*. USA, Lippincott Williams and Wilkins, 2000, 679 p.
14. Saltin B. Physiological effects of physical conditioning. *Medicine and Science in Sports*, 1969, vol. 1, p. 50–56.
15. Shave R., Franco A. The physiology of endurance training. In: *The Physiology of Training* (edited by Whyte G.), 2006. Churchill Livingstone, Elsevier. Printed in UK, p. 61–84.
16. Sjodin B., Jacobs I. Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. *International Journal of Sports Medicine*, 1981, vol. 2, p. 23–26.
17. Sjodin B., Svendenhag J. Applied physiology of marathon running. *Sports Medicine*, 1985, vol. 2, p. 83–99.

Summary

The endurance of road cyclists depends on their aerobic capacity and the coefficient of work efficiency. The aim of our investigation is to compare endurance of adolescent and young road cyclists with the help of an aerobic load test.

Young Latvian road cyclists participated in the investigation. They performed an incremental load aerobic test on a bicycle ergometer to submaximal intensity. Cardiopulmonary diagnostic equipment was used for ventilatory characteristics measurement and electrocardiography registration. The lactic acid concentration in capillary blood was tested with special lactate analysers.

The workload and the coefficient of the mechanical work efficiency at the anaerobic threshold intensity load were significantly greater in young cyclists than in adolescents, but the heart rate was significantly lower in the older cyclists. The relative oxygen uptake was the same in adolescent and young road cyclists.

Keywords: *aerobic capacity, endurance, aerobic threshold, anaerobic threshold, load test, cyclists.*

Pārtikas alerģija bērniem – riska faktors alerģisko slimību attīstībai

Food Allergy in Children – a Risk Factor for the Further Development of Allergic Diseases

Silvija Remberga¹, Dace Sniedze², Ingrida Rumba-Rozenfelde³

¹Latvijas Universitāte, Raiņa bulvāris 19, Rīga, LV-1586, e-pasts: remberga@apollo.lv

²Rīgas Stradiņa universitāte, Dzirciema iela 16, Rīga, LV-1007
E-pasts: dace-asmane@yahoo.com

³Latvijas Universitāte, Raiņa bulvāris 19, Rīga, LV-1586, e-pasts: ingrida.rumba@parks.lv

Pārtikas alerģija kļūst aizvien aktuālāka problēma pasaulē, tā sākas bērnībā un skar 6–8% bērnu. 20% šo bērnu būtu nepieciešamas speciālas diētas, lai apturētu tālāko alerģisko slimību attīstību. Pirmajiem dzīves gadiem raksturīga īpaši liela saslimstība, bet, sasniedzot trīs gadu vecumu, bērnam rodas tolerance pret pārtikas produktiem 80% gadījumu, tomēr alerģisko slimību tālāko attīstību nosaka inhalāciju alergēnu darbība. Tādēļ retrospektīvā pētījumā autore noteica, pret kādiem pārtikas un inhalāciju alergēniem ir sensitizēti 86 bērni vecumā no 4 mēnešiem līdz 13 gadiem (vidējais vecums 33,97 mēneši, CI 95% 28,13–39,8), nosakot IgE antivielas ar ELISA testu. Pārtikas alerģijas klīniskās izpausmes mainījās līdz ar vecumu – jaunākajiem bērniem prevalēja atopiskā dermāta klīnika, bet vecākiem – bronhiālās astmas un alerģiskā rinīta klīniskās izpausmes. Lielākā daļa bērnu bija sensitizēti pret vairāk nekā trīs pārtikas alergēniem. Pirmie simptomi vidēji izpaudās 8,46 mēnešu vecumā (CI 95% 5,72–11,2). Atopiskas slimības ģimenes anamnēzē bija 31% bērnu. 92% no 24 bērniem, kas bija sensitizēti pret govju pienu, vienlaikus bija sensitizēti arī pret soju.

Lielākajai daļai bērnu (97%) tika novērota arī sensitizācija pret daudziem pārtikas alergēniem, bet, viņiem sasniedzot trīs gadu vecumu, tā pieaug pret inhalāciju alergēniem un klīniski prevalē respiratoriskie simptomi, kas apstiprina faktu, ka pārtikas alerģija pirmajā dzīves gadā ir riska faktors bronhiālās astmas attīstībai.

Atslēgvārdi: bērni, alerģija, IgE, riska faktori.

Ievads

Pēdējo gadu desmitu laikā pārtikas alerģijas kļuvas par nopietnu veselības problēmu industrializētās valstīs. 1998. gadā publicētā pētījumā par alerģisku slimību prevalenci bērniem starp valstīm ar augstāko un zemāko prevalenci bija 20–60 reizes liela atšķirība (ISAAC Steering Committee, 1998).

Līdz pat 25% pieaugušo uzskata, ka viņiem vai viņu bērniem ir pārtikas alerģija (Woods et al., 2001). Tomēr patiesā pārtikas alerģijas prevalence ir zemāka. Klīniskie pētījumi liecina, ka 6–8% bērnu ir pārtikas alerģija pirmo trīs dzīves gadu laikā (Helm et al., 2000), un prevalence samazinās pirmās dzīves dekādes laikā, jo rodas tolerance. Zīdaiņiem visizplatītākā ir govju piena alerģija – IgE noteikta pat 57–64% gadījumu (Saarinen et al., 2000). Līdztekus govju piena alergēniem bieži sastopama

Retrospektīvajam pētījumam izmantota šāda informācija no pacientu slimības vēsturēm:

- personīgie un ģimenes dati par atopiskām slimībām (1. un 2. pakāpes radnieki),
- klīniskās izpausmes (par orgānu sistēmām, izolēti vai kombinēti),
- pirmo klīnisko simptomu manifestācijas vecums,
- pārtikai un inhalāciju alergēniem atbilstošo specifisko IgE rezultāti.

Specifisko IgE noteikšanai tika izmantota *Acti Tip Allerg Ens System* (Dexall Biomedical Labs, Inc., Gaithersburg, MD) ELISA metode. *Allerg Ens* un *Pharmacia* RAST/CAP testa korelācijas koeficients ir 96%. Antivielu skaits izteikts *Allerg Ens* vienībās (A.U./ml). Antivielu līmeņa interpretācija veikta pēc ražotāja ieteiktā IgE antivielu līmeņa rādītājiem. IgE testa rezultāti iegūti no pacientu ambulatorās novērošanas kartēm.

Diagnostikas definīcijas pacientu ambulatorās novērošanas kartēs.

Atopisks dermatīts tika diagnosticēts, ja bērnam anamnēzē bija hronisks vai hroniski recidivējošs niezošs dermatīts ar tipisku morfoloģiju un izplatību (Hanifin et al., 1980). Alerģiska rinīta diagnoze tika pamatota ar iesnām un/vai aizliktu degunu, un/vai acu niezi, asarošanu anamnēzē, šiem simptomiem bija sezonāls raksturs, vai arī tie bija atkarīgi no saskares ar dzīvniekiem, pelējumu, polēniem, izslēdzot infekcijas iespēju. Astmas diagnoze formēta atbilstoši GINA (*Global Initiative for Asthma*) rekomendācijām (GINA, 2007).

Statistiskā analīze. Datu apstrādei tika izmantotas programmas *MS Excel 2000* un *Prism for Windows V.4.03* (*GraphPad Software, San Diego California USA*). Analīze tika veikta ar ticamības intervālu 95% (CI 95%). Salīdzinot atsevišķus alergēnus vieniem un tiem pašiem cilvēkiem, lietoti sapāroti t-testi.

Rezultāti

Noteiktie alergēni

1. tabulā parādīti visi pārtikas produkti, pret kuriem bērniem ir noteikta paaugstināta jutība (specifiskā IgE līmenis virs 0,75 A.U./ml, atbilstoši ražotāja instrukcijām tas liecina par antivielu klātbūtni).

1. tabula

Galvenie pārtikas alergēni

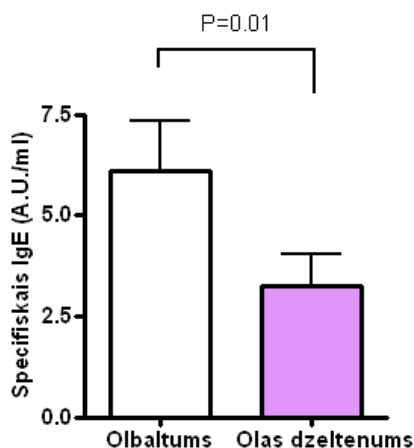
Main food allergens

Pārtikas produkti	Sensitizēti / no kopējā skaita (procentos)	Specifiskā IgE vidējā vērtība (A.U./ml) ± SE*
Dārzeņi		
Burkāni	44/57 (77%)	4,43 ± 0,56
Kartupeļi	61/70 (87%)	5,34 ± 0,47
Tomāti	27/30 (90%)	3,94 ± 0,47
Soja	25/30 (83%)	5,56 ± 0,72
Augļi		
Āboli	66/73 (90%)	3,93 ± 0,40
Apelsīni	38/44 (86%)	3,41 ± 0,36

Banāni	60/66 (91%)	3,84 ± 0,35
Bumbieri	26/33 (79%)	4,35 ± 0,67
Kivi	9/9 (100%)	5,92 ± 1,81
Persiki	13/18 (72%)	3,91 ± 0,80
Zemenes	26/32 (81%)	3,16 ± 0,38
Gaļa		
Vistas gaļa	62/68 (91%)	5,40 ± 0,62
Cūkgaļa	34/38 (89%)	2,91 ± 0,25
Liellopu gaļa	31/36 (86%)	5,87 ± 0,81
Graudaugi		
Kvieši	57/69 (83%)	4,83 ± 0,52
Rudzi	16/20 (80%)	3,67 ± 0,65
Griķi	30/32 (94%)	6,05 ± 0,91
Rīsi	32/35 (91%)	6,64 ± 0,80
Auzas	30/32 (94%)	5,29 ± 0,60
Dažādi		
Zivis	35/39 (90%)	3,98 ± 0,54
Govs piens	63/71 (88%)	4,57 ± 0,37
Olbaltums	38/46 (83%)	4,89 ± 0,52
Olas dzeltenums	22/29 (76%)	3,25 ± 0,48
Zemesrieksti	5/7 (70%)	5,72 ± 2,47
Šokolāde	25/31 (81%)	3,20 ± 0,58

(*SE – standartkļūda).

Visiem bērniem bija noteiktas IgE antivielas pret kādu pārtikas antigēnu. 83 (97%) no 86 bērniem bija sensitizācija pret trīs un vairāk pārtikas alergēniem, no kuriem 42 (49%) bērniem noteikto antivielu skaits bija desmit un vairāk. Diemžēl no šīs tabulas nav iespējams izdarīt secinājumus par to, kādi ir alergiskākie produkti bērniem Latvijā, jo ir dažāds pētāmo bērnu skaits dažādās grupās. Šo darbu plānots veikt turpmākos pētījumos.

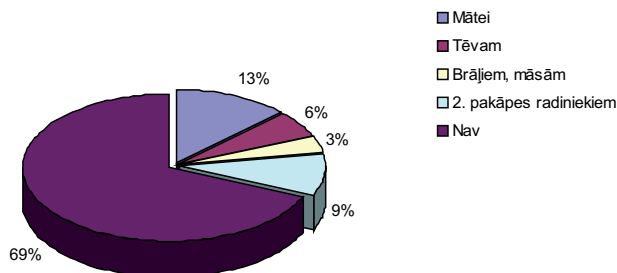


1. attēls. Specifisko IgE salīdzinājums olbaltumam un olas dzeltenumam
Figure 1. Comparison of specific IgE indicators for egg white and egg yolk

Attēlā salīdzinātas specifiskās IgE vidējās vērtības starp olbaltumu un olas dzeltenumu. Tika lietots sapārrots t-tests, lai salīdzinātu imūnsistēmas atbildes reakciju pret šiem alergēniem bērniem, kam bija noteiktas abas šīs IgE antivielas. Novērojumu skaits bija 10 ($p < 0,05$), kas liecina par statistiski nozīmīgu atšķirību.

Pārmantojamība

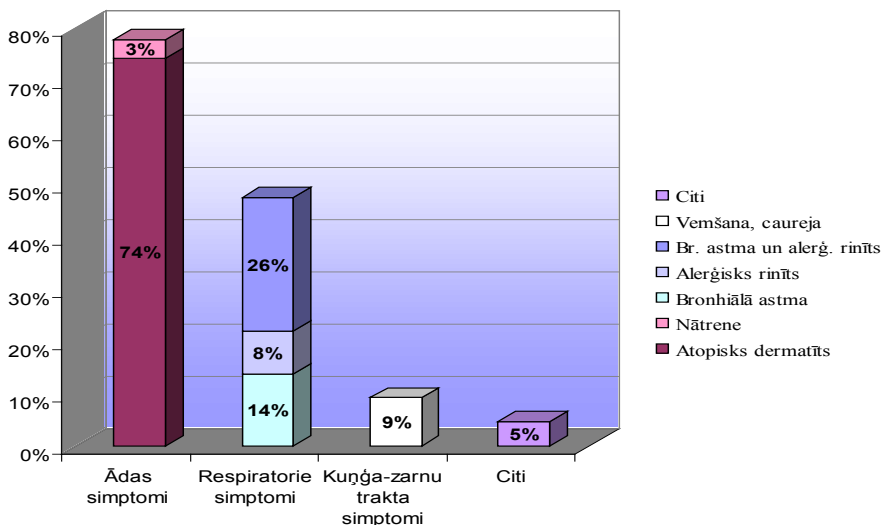
Pamatojoties uz anamnēzes datiem, iegūta informācija par atopiskām slimībām radniekiem. Informācija par ģimeni tika iedalīta sīkāk: 1. pakāpes radnieki (māte, tēvs, brāļi un māsas) un 2. pakāpes radnieki.



2. attēls. Pārmantojamība
Figure 2. Hereditary diseases

Kliniskās izpausmes

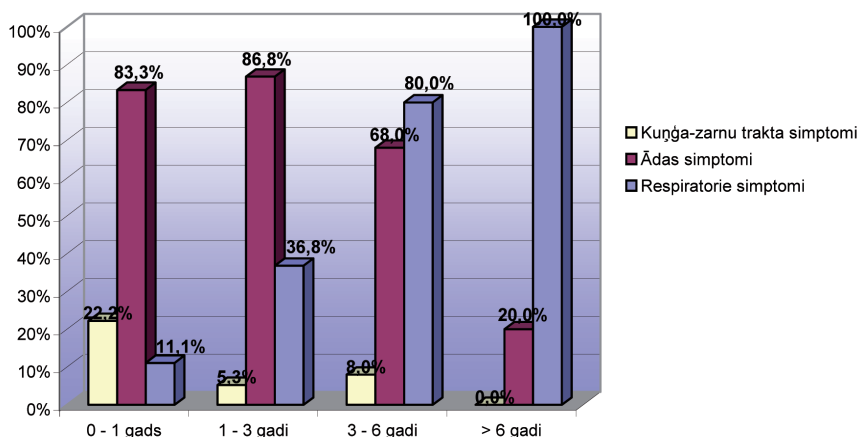
Trīs pacientiem (3%) simptomu nebija. 83 pacientiem (97%) bija klīniski simptomi dažādās orgānu sistēmās (izolēti 47%, kombinēti 50%).



3. attēls. Pārtikas alerģijas klīniskās izpausmes
Figure 3. Clinical manifestations of food allergy

Pārtikas alerģijas klīniskās izpausmes dažādās bērnu vecuma grupās

Klīniskās izpausmes tika iedalītas pēc orgānu sistēmām: āda (atopiska ekzēma / dermatīts, nātrene), respiratorā sistēma (alerģiskais rinīts, bronhiālā astma), kuņģa-zarnu trakts (vemšana, caureja). Četriem pacientiem anamnēzē bija arī citi simptomi – anafilaktiska reakcija, sekretors otīts.



4. attēls. Pārtikas alerģijas klīniskās izpausmes dažādās vecuma grupās

Figure 4. Food allergy manifestations in various age groups

2. tabula

Alerģisko slimību klīniskās izpausmes dažādās bērnu vecuma grupās
Clinical manifestations of allergic diseases in different age groups of children

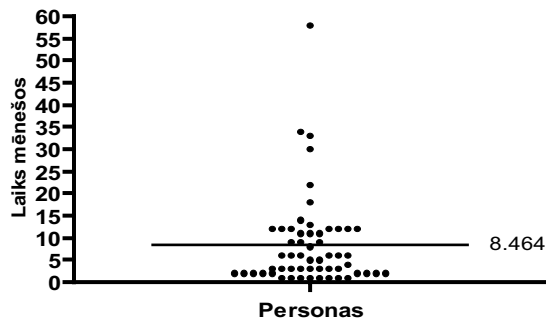
Simptomi	Vecuma grupas				Kopā N = 86
	0–1 g. N = 18	1–3 g. N = 38	3–6 g. N = 25	> 6 g. N = 5	
Atopisks dermatīts	15 (83%)	31 (82%)*	17 (68%)	1 (20%)*	64 (74%)
Nātrene	–	2 (5%)	1 (4%)	–	3 (3%)
Alerģisks rinīts	1 (5%)	9 (24%)	16 (64%)	3 (60%)	29 (34%)
Bronhiālā astma	1 (5%)*	9 (24%)*	19 (76%)	5 (100%)*	34 (40%)
Kuņģa-zarnu trakta simptomi	4 (22%)	2 (5%)	2 (8%)	–	8 (9%)

Bērnu skaits iekavās norādīts procentos no pacientu skaita attiecīgā vecuma grupā, * $p < 0,001$.

Pēc iegūtajiem rezultātiem redzams, ka atopiskais dermatīts ir būtiski palielināts bērniem vecuma grupā no viena līdz trīs gadiem, bet bronhiālā astma būtiski izpaužas bērniem, kas vecāki par sešiem gadiem.

Pirmie simptomi

56 pacientiem (65%) bija minēts vecums, kad parādījās pirmie simptomi. Vidēji tas bija 8,46 mēnešu vecumā (CI 95% 5,72–11,20).



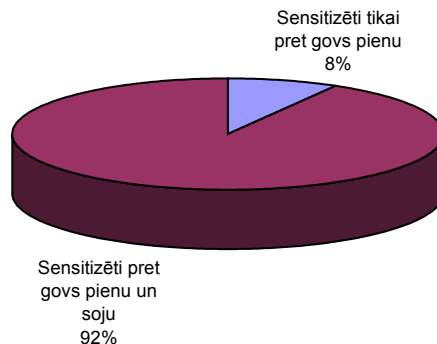
5. attēls. Pirmo simptomu parādīšanās vecums

Figure 5. Age of the first food allergy symptoms

(Attēlā ar punktiem apzīmēta katra persona, novietojums uz Y ass atkarīgs no pirmo simptomu parādīšanās.) Pirmo simptomu maksimāla izpausme ir 8,5 mēnešu vecumā.

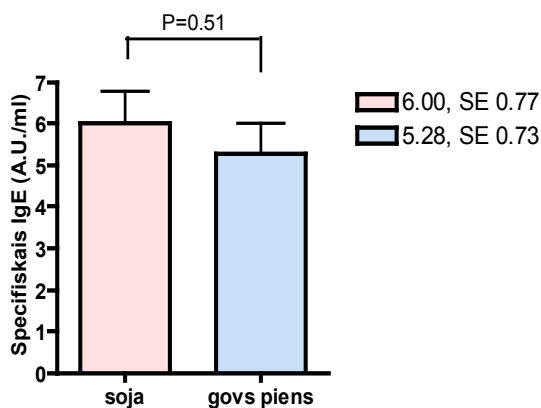
Sensitizācija pret govju pienu un soju

Tā kā ir zināms, ka lielākai daļai pacientu ar govju piena alerģiju ir alerģija arī pret soju, tika analizēti pacienti, kam vienlaikus noteikta sensitizācija pret govju pienu (IgE līmenis virs 0,75 A.U./ml) un sensitizācija pret soju.



6. attēls. Pārtikas alerģija pret govju pienu un soju

Figure 6. Incidence of cow milk, soy allergy



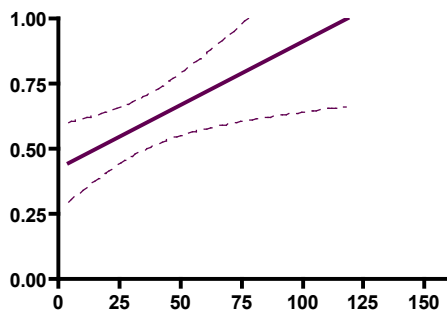
7. attēls. Specifisko IgE salīdzinājums sojai un govju pienam

Figure 7. Comparison of specific IgE indicators for soy and cow milk

Attēlā salīdzinātas specifiskās IgE vidējās vērtības starp soju un govju pienu bērniem, kas vienlaikus bija sensitizēti pret abiem produktiem. Paskaidrojums norādīta IgE vidējā vērtība un vidējā kļūda. Novērojumu skaits bija 22 ($p > 0,05$), kas liecina par statistiski nenozīmīgu atšķirību.

Inhalāciju alergēni

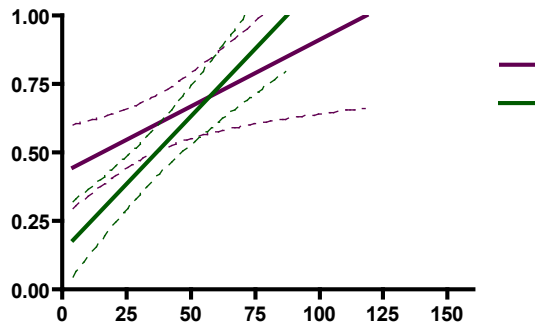
Tika noteikta arī saistība starp bērna vecumu un pieaugošu sensitizāciju pret inhalāciju alergēniem. Līdz ar vecumu pieaug IgE atbildes reakcija pret inhalāciju alergēniem.



8. attēls. Inhalāciju alergēnu saistība ar vecumu (pazīme ir – 1, pazīmes nav – 0)

Figure 8. Connection between inhalatory allergens and the child's age (age in months, presence of the characteristic – 1, absence of the characteristic – 0)

Respiratorie simptomi un inhalāciju alergēni



9. attēls. Respiratoro simptomu un inhalāciju alergēnu saistība ar vecumu (pazīme ir – 1, pazīmes nav – 0)

Figure 9. Connection between respiratory symptoms and inhalatory allergens and the child's age (presence of the characteristic – 1, absence of the characteristic – 0)

Diskusija

Noteiktie alergēni

Lielākajai daļai bērnu (97%) bija sensitizācija pret trīs un vairāk pārtikas alergēniem, kas var liecināt par alerģiju pret vairākiem attiecīgiem pārtikas produktiem, kā arī par krustenisku reakciju, kad IgE antivielas atpazīst līdzīgas struktūras atšķirīgās olbaltumvielās. Ar ziedputekšņiem saistītas pārtikas alerģijas gadījumā specifiskās IgE antivielas primāri veidojas pret ziedputekšņu alergēniem, bet atpazīst arī homologas struktūras dārzeņos un augļos. Zemesrieksti literatūrā tiek minēti kā viens no biežākajiem pārtikas alergēniem (Sampson, 2004), taču šajā pētījumā novērots, ka Latvijā, pamatojoties uz anamnēzi, specifiskās IgE antivielas tika noteiktas tikai septiņiem bērniem, no kuriem pieciem bija paaugstināts IgE līmenis. Vietējās tradīcijas un pārtikas sagatavošana ietekmē pārtikas alerģijas izplatību dažādās valstīs. Tā, piemēram, H. A. Sampsons raksta, ka Ķīnā lielākoties lieto vārītus zemesriekstus, un alerģija pret tiem ir retums, taču ASV lieto grauzdētus zemesriekstus, un alerģija pret tiem ir ļoti bieži sastopama. Autors arī skaidro, ka grauzdējot ir lielāks karstums (180 °C), kas pastiprina zemesriekstu alergēnās īpašības. Iespējams, šis faktors ir nozīmīgs arī Latvijā.

Salīdzinot vidējās specifisko IgE vērtības olbaltumam un olas dzeltenumam vieniem un tiem pašiem bērniem, konstatētā atšķirība ir statistiski nozīmīga ($p = 0,01$), un var secināt, ka olbaltumam ir lielāka tendence izraisīt alerģiju nekā olas dzeltenumam. Tomēr šis mērījums būtu jāatkārto ar lielāku novērojumu skaitu. Olas, turklāt tieši olbaltums, tiek minēti starp biežākajiem alergēniem visā pasaulē (Sampson, 2004).

Pārmantojamība

Pamatojoties uz iegūtajiem datiem, var secināt, ka lielākā daļa bērnu nāk no ģimenēm bez atopiskām slimībām anamnēzē.

Novērojumi par ģenētisko lomu pārtikas alerģijas attīstībā sakrīt ar citu autoru novērojumiem, jo trešdaļai pacientu bija ģimenes locekļi vai radnieki ar atopiskām slimībām.

Arī Francijā veiktā pētījumā no 544 pacientiem ar pārtikas alerģiju, kam diagnoze apstiprināta ar pārtikas tolerances testu, atopiska slimība ģimenes anamnēzē bija 70,5% pacientu (Rance et al., 1999).

No iegūtajiem rezultātiem šajā bērnu grupā var secināt, ka atopiska slimība biežāk bija pirmās pakāpes radniekiem nekā otrās pakāpes radniekiem, attiecīgi 22 un 9%, turklāt biežāk mātei nekā tēvam – 13 un 6%. Tomēr jāņem vērā arī iespējamā kļūda, jo par tuvākiem radniekiem informācija ir labāk zināma, bet par attālākiem radniekiem vecāki varēja arī nezināt un uzskatīt, ka atopisku slimību nav. No šī viedokļa informācija par 1. pakāpes radniekiem ir ticama.

Klīniskās izpausmes

Novērojot bērnus ar paaugstinātu jutību pret govs pienu, A. Hosts (Host, 2002) ir atzīmējis ādas simptomus 50–70% gadījumu, respiratorus simptomus 20–30% un kuņģa–zarnu trakta simptomus 50–60% gadījumu. Autors atzīmē, ka lielākai daļai bērnu bija vairāk nekā divi simptomi no dažādām orgānu sistēmām.

D. Korola (Korol et al., 1998) arī min līdzīgu simptomu lokalizāciju bērniem ar IgE noteiktu un ne IgE noteiktu pārtikas alerģiju, attiecīgi 67% – ādas simptomi, 34% – respiratori simptomi, 57% – kuņģa–zarnu trakta simptomi.

Šajā pētījumā bija salīdzinoši maz ar kuņģa–zarnu traktu saistītu simptomu. Iespējamais skaidrojums šādi parādībai varētu būt tas, ka vemšana, caureja, gastroezofagāls atvērnis, kā izpaužas paaugstināta jutība pret pārtiku, vairāk raksturīgi agrīnā vecumā (līdz 1 g. v.), bet pētāmajā grupā lielākā daļa bērnu ir vecāki. Varētu gaidīt, ka bērniem 0–1 g. v. kuņģa–zarnu trakta simptomiem būtu jābūt biežāk (4. att.). To var skaidrot tā, ka šie simptomi varēja būt agrāk un salīdzinoši viegli, tāpēc tiem netika pievērsta uzmanība, un pacients griezies pie alergologa vēlāk, kad radušies citi simptomi, kas traucē vairāk.

Pētījumā no 86 bērniem 64 jeb 74% bērnu līdz sešu gadu vecumam bija atopiska ekzēma. Atopiska ekzēma bija prevalējošā klīniskā izpausme. Visiem šiem bērniem bija pozitīvas IgE antivielas pret pārtikas produktiem, un 32 jeb 50% bija pozitīvas IgE antivielas pret kādu no inhalācijas alergēniem.

G. Gilē (Guillet et al., 1992) pētīja 250 bērnus ar atopisku dermatītu. Viegla atopiska dermatīta gadījumā IgE antivielas pret pārtikas alergēniem nebija, vidēji smaga atopiska dermatīta gadījumā tās bija 33% pacientu, bet bērniem ar smagu atopisku dermatītu sensitizācija pret pārtikas alergēniem bija 96% gadījumu.

No pacientu slimības vēsturēm nebija iespējams noteikt atopiska dermatīta smagumu, tāpēc nevar spriest par atopiska dermatīta smagu vai vieglu formu saistību ar pārtikas alerģiju. Iespējams, lielo sensitizāciju kopējā grupā var izskaidrot ar to, ka pie alergologa kā speciālista griežas pacienti ar smagākām klīniskām izpausmēm.

Šajā pētījumā iegūtie rezultāti ir līdzīgi kā iepriekš minēto autoru prospektīvā pētījumā – 93% no 29 bērniem ar atopisku dermatītu atklāta arī sensitizācija pret inhalācijas alergēniem, un tādējādi secināts, ka bērniem ar atopisku dermatītu var

prognozēt smagu saslimstību ar pārtikas alerģijām, kā arī to var uzskatīt par svarīgu respiratoro simptomu priekšvēstnesi.

Citā pētījumā no 63 bērniem un pusaudžiem (vidējais vecums 2,8 gadi) ar vidēji smagu, refraktāru atopisku dermatītu 37% bija noteikta klīniski nozīmīga IgE noteikta paaugstināta jutība pret pārtiku (Eigenmann et al., 1998).

Japānā veiktā pētījumā no 39 bērniem, jaunākiem par pieciem gadiem, IgE antivielas pret kādu no pārtikas alerģijām tika noteiktas 64,1% bērnu, taču arī kontroles grupā bez atopiska dermatīta pārtikai specifiskās IgE antivielas tika noteiktas 30,2% bērnu (Hamada et al., 2005).

Pētījumā Nīderlandē tika aplūkota atopisku slimību attīstība 133 jaundzimušiem ar augstu atopijas risku (Laan et al., 2000). Visiem bērniem, kam 12 mēnešu vecumā bija pārtikas alerģija un atopisks dermatīts, 24 mēnešu vecumā bija astmai līdzīga slimība, un visiem vēl arvien bija atopisks dermatīts. Pārtikai specifiskās antivielas bija nozīmīgi saistītas ar atopisku dermatītu (relatīvais risks [RR] = 2,39), pārtikas alerģiju (RR = 1,32) un augšējo elpceļu alerģiju (RR = 1,20), bet putekļu ērcītēm specifiskās IgE antivielas bija saistītas ar augšējo elpceļu alerģiju (RR = 5,00).

Bronhiālā astma kā vienīgais respiratorais simptoms tika noteikts 14% bērnu, bet alerģisks rinīts – 8% bērnu. Abi šie simptomi biežāk bija sastopami kopā – 26% gadījumu. Respiratoro simptomu biežums pieauga līdz ar vecumu. Vairākos pētījumos norādīta saistība starp sensitizāciju pret pārtikas alerģijām un astmas attīstību, tās paasinājumiem. J. Vanga (Wang et al., 2005) raksta, ka no 504 bērniem ar diagnosticētu astmu 45% bija sensitizācija pret vismaz vienu pārtikas alerģiju, turklāt šiem bērniem biežāk bija nepieciešama hospitalizācija un steroīdi medikamenti nekā bērniem bez sensitizācijas.

Ne visiem bērniem ar astmu ir pārtikas alerģija, taču, iespējams, ja ir arī pārtikas alerģija, slimības gaita ir smagāka.

Salīdzinājumā ar ISAAC kohortu, kurā tika iekļauti 721 601 bērni no visas pasaules, rinīta prevalences bija vidēji 7,5%, astma – vidēji 8% un atopisks dermatīts – vidēji 3,6% bērnu (ISAAC Steering Committee, 1998). Var secināt, ka bērniem ar sensitizāciju pret pārtikas alerģijām šīs atopiskās izpausmes ir biežāk (attiecīgi 34, 40 un 74%).

Sensitizācija bez klīniskām izpausmēm

Trīs bērniem (3%) no 88 nebija klīnisku simptomu, bet bija palielināts IgE antivielu līmenis pret pārtikas alerģijām un pret inhalāciju alerģijām. Visi trīs bija zēni dažādā vecumā (5 mēneši, 2 gadi 9 mēneši un 5 gadi 9 mēneši), visiem bija noteiktas IgE antivielas pret govju pienu (otrais līmenis, kas atbilst vidēji augstam antivielu līmenim), vistas gaļu, kviešiem un apelsīniem. Katram atsevišķi bija noteikti vēl citi IgE pozitīvi alerģeni.

Tas apliecina, ka ne visiem bērniem ar sensitizāciju ir klīniskas pārtikas alerģijas izpausmes.

M. Vikmans (Wickmann et al., 2005), analizējot IgE antivielas pret pārtikas un inhalāciju alerģijām, noteicis pozitīvus rezultātus 38% no 2612 bērniem četrus gadus vecumā ar alerģisku slimību. Pozitīvs IgE antivielu rezultāts tika noteikts vēl

17% bērnu bez alergiskas slimības. Autori arī noteikuši, ka vidējais summētais IgE antivielu līmenis bērniem ar simptomiem ir apmēram 10 reizes lielāks nekā bērniem bez simptomiem.

Būtu interesanti turpināt novērot šos bērnus, vai viņiem neradīsies klīniskas izpausmes arī nākotnē.

Pirmie simptomi

Pirmie simptomi par paaugstinātu jutību pret pārtiku sākās vidēji 8,46 mēnešu vecumā (CI 95% 5,72 – 11,20). Bērniem, kam bija tikai ādas simptomi, arī pirmie simptomi izpaudās uz ādas, bet bērniem ar kuņģa–zarnu trakta simptomiem (9%) neatkarīgi no pārējiem simptomiem šie vienmēr bija pirmie.

Nevienam no 56 bērniem, kam bija zināms pirmo simptomu rašanās laiks, alergisks rinīts nebija pirmā klīniskā izpausme. Tikai vienai meitenei bronhiālā astma bija pirmā klīniskā izpausme sešu mēnešu vecumā.

D. Korola (Korol et al., 1998) raksta, ka bērniem ar paaugstinātu jutību pret pārtiku pirmie simptomi izpaudās galvenokārt pirmo sešu mēnešu laikā.

Savukārt M. Kuitunena (Kuitunen et al., 1994) pētījumā noteikts, ka paaugstinātas jutības simptomi 80% pētāmo bērnu radās pirmā dzīves gada laikā.

Analizējot sīkāk un aplūkojot 5. attēlu, var secināt, ka 88% no 56 bērniem pirmie simptomi radās pirmā dzīves gada laikā. Augstāku vidējo vērtību nosaka atlikušie 12%, kam pirmie simptomi radās ievērojami vēlāk.

Sensitizācija pret govju pienu un soju

Analizējot pacientus, kam noteikti arī specifiskie IgE pret soju un specifiskie IgE pret govju pienu, var secināt, ka no 24 pētījumā iekļautajiem pacientiem 22 (92%) ir pozitīva IgE antivielu reakcija pret soju. 7. attēlā parādīts, ka nav statistiski būtiskas atšķirības ($p = 0,51$) starp vidējām IgE vērtībām, salīdzinot šos rādītājus vienam un tiem pašiem bērniem, kas arī atspoguļo šo alergēnu kopīgo tendenci.

Korejā veiktā pētījumā (Ahn et al., 2003) sensitizācija pret soju tika noteikta 18,3% no 224 bērniem populācijā, kas reizē sensitizēta arī pret govju piena olbaltumvielām. Autori izmantoja *Pharmacia* CAP metodi, un par pozitīvu tika atzīts specifiskā IgE līmenis virs 0,7 kU/l. Kopējais pret sojas olbaltumvielām sensitizēto bērnu daudzums samazinājās, pieaugot vecumam (no 36,8% pirmajā dzīves gadā līdz 13,7% trešajā gadā).

Polijā veiktā pētījumā 45% no 97 bērniem ar sensitizāciju pret govju pienu ir noteikti sojai specifiskie IgE (Szaflarska-Szcepanik et al., 2003).

P. Rozenfelds (Rozenfeld et al., 2002) ar kolēģiem noteikuši un identificējuši sojas olbaltumvielas sastāvdaļu, kas krusteniski reaģē ar kazeīniem no govju piena.

Lai skaidri noteiktu, vai soja šiem bērniem ir klīniski nozīmīgs alergēns, t. i., vai tas izraisa arī klīnisku reakciju, jāveic pārtikas tolerances tests, taču var secināt, ka sensitizācija ir bieža. Šis fakts būtu jāņem vērā, ieviešot uzturā sojas produktus bērniem ar paaugstinātu jutību pret govju pienu, īpaši zīdaiņiem, un izvēloties starp hidrolizētu govju piena maisījumu un sojas maisījumu.

Savukārt A. Kantāni (Cantani et al., 1990) ziņo par 21 zīdaiņiem ar atopisku dermatītu un paaugstinātu jutību pret govju pienu. 20 zīdaiņiem samazinājās ādas bojājumi, lietojot sojas olbaltumvielu maisījumu.

Inhalāciju alergēni

Ādas simptomi prevalē bērniem līdz trīs gadu vecumam un vēlāk pakāpeniski samazinās, taču respiratorie simptomi pakāpeniski pieaug un dominē, sākot no 3–6 gadu vecuma.

Izmantojot lineāro regresiju, tika attēlots, kā sensitizācija pret inhalāciju alergēniem pieaug, palielinoties vecumam, un, pievienojot šai taisnei respiratoro simptomu taisni, varēja novērot, ka respiratoro simptomu biežums arī pieaug līdz ar vecumu. Tas atspoguļo tā saucamo “alerģijas maršu”, kam raksturīga pārtikas alerģija bērnībā un vēlāk arī hroniskas elpceļu slimības. Arī citi autori ir norādījuši uz līdzīgu sakarību.

M. P. Lāns (Laan et al., 2000), novērojot bērnus ar atopisku dermatītu kā vienīgo klīnisko izpausmi bērniem 12 mēnešu vecumā, noteica specifiskās IgE antivielas tikai pret pārtikas alergēniem, bet 24 mēnešu vecumā šiem pašiem bērniem vēl arvien bija atopisks dermatīts, 40% gadījumu bija pievienojusies astmai līdzīga slimība, un serumā bija atrodamas gan IgE antivielas pret pārtikas alergēniem, gan pret inhalāciju alergēniem.

Lielā pētījumā Vācijā, prospektīvi novērojot bērnus no dzimšanas līdz piecu gadu vecumam, bērniem ar ilgstošu sensitizāciju pret pārtikas alergēniem bija 3,4 reizes lielāks risks saslimt ar alerģisku rinītu un 5,5 reizes lielāks risks saslimt ar astmu salīdzinājumā ar bērniem, kam sensitizācija pret pārtiku bija pārejoša (Kulig et al., 1998).

Japānā veiktā pētījumā 111 zīdaiņi tika novēroti līdz piecu gadu vecumam, un autori noteica, ka pozitīva reakcija pret olbaltumu sešu mēnešu vecumā ir cieši saistīta ar inhalāciju alergēnu izraisītu alerģisku slimību pirmo piecu gadu laikā (Sasai et al., 1996).

Secinājumi

1. Lielākajai daļai pētījumā iesaistīto bērnu (97%) ir sensitizācija pret daudziem pārtikas alergēniem. Sasniedzot trīs gadu vecumu, sensitizācija pieaug pret inhalāciju alergēniem, un tad klīniski prevalē respiratoriskie simptomi. Respiratorās alerģijas izpausmju biežums bija statistiski ticami augstāks vecuma grupā > 6 gadi ($p < 0,001$), kas apstiprina faktu, ka pārtikas alerģija agrīnā bērna vecumā ir riska faktors bronhiālās astmas attīstībai (RR = 4,2).

2. Trešajai daļai bērnu (31%) ir atopiskas slimības ģimenes anamnēzē.

3. Tikai 3% bērnu, kuriem diagnosticēta sensitizācija pret pārtiku, netika novēroti klīniskie simptomi.

4. Novērotajiem pacientiem vecumā līdz vienam gadam bija maz ar kuņģa un zarnu traktu saistītu simptomu (22%) salīdzinājumā ar literatūras datiem.

5. Ļoti bieži (92%) ir sastopama sensitizācija pret govju pienu un arī soju, tāpēc sojas produktu ieviešana uzturā bērniem ar alerģiju pret govju pienu nebūtu rekomendējama ($p = 0,5$).

6. Salīdzinot vidējās specifisko IgE vērtības olbaltumam un olas dzeltenumam vieniem un tiem pašiem bērniem, atšķirība ir statistiski nozīmīga ($p = 0,01$) (olbaltumam ir lielāka tendence izraisīt alerģiju nekā olas dzeltenumam).

Literatūra

1. Ahn K. M., Han Y. S., Nam S. Y., Park H. Y., Shin M. Y., Lee S. I. Prevalence of soy protein hypersensitivity in cow's milk protein-sensitive children in Korea. *J Korean Med Sci.* 2003, 18(4): 473–7.
2. Arshad S. H. Primary prevention of asthma and allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2005, 116: 3–14.
3. Bindslev-Jensen C., Ballmer-Weber B. K., Bengtsson U., Blanco C., Ebner C., Hourihane J. et al. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods – position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 2004, 59: 690–7.
4. Bousquet J., Bieber T., Fokkens W., Humbert M., Kowalski L., Niggemann B., Simon H.-U., Schunemann H. Consensus statements, evidence-based medicine and guidelines in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2008, vol 63; No. 1; 1–5.
5. Cantani A., Ragno V., Businco L. Natural history of IgE-mediated food allergy in fully breast-fed newborns. *Pediatr All Immunol*, 1992, 2: 131–134.
6. Celik-Bilgili S., Mehl A., Verstege A., Staden U., Nocon M., Beyer K., Niggemann B. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral food challenges. *Clin Exp Allergy* 2005, 35: 268–73.
7. Duran-Tauleria E., Viganti G., Guedan M. J., Petersson C. J. The utility of specific immunoglobulin E measurements in primary care. *Allergy* 2004, 59(78): 35–41.
8. *Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. NHLBI/WHO Workshop Report. March 1993*, National Institutes of Health/NHLBI, Publication No. 95–3659, 2007.
9. Guillet G., Guillet M. H. Natural history of sensitizations in atopic dermatitis. A 3-year follow-up in 250 children: food allergy and high risk of respiratory symptoms. *Arch Dermatol.* 1992, 128(2): 187–92.
10. Hamada M., Furusyo N., Urabe K., Morita K., Nakahara T., Kinukawa N., Nose Y., Hayashi J., Furue M. Prevalence of atopic dermatitis and serum IgE values in nursery school children in Ishigaki Island, Okinawa, Japan. *J Dermatol* 2005, 32(4): 248–55.
11. Hanifin J. M., Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol, Suppl* 92: 44–47, 1980.
12. Helm R. M., Burks A. W. Mechanisms of food allergy. *Curr Opin Immunol* 2000, 12: 647–53.
13. Host A., Halken S. Can we apply clinical studies to real life? Evidence-based recommendations from studies on development of allergic diseases and allergy prevention. *Allergy* 2002, 57: 389–397.
14. Kalogeromitros D. C., Makris M. P., Gregoriou S. G., Katoulis A. C., Straurianean N. G. Sensitization to other foods in subjects with reported allergy to grapes. *Allergy Asthma Proc* 2006, 27(1): 68–71.

15. Karol D., Kaczmarek M. Natural history of children's hypersensitivity towards cow milk proteins. *Med Sci Monit* 1998, 4(6): 1012–1018.
16. Kerkhof M., Wijga A., Smit H. A., de Jongste J. C., Aalberse R. C., Brunekreef B., Gerritsen J., Postma D. S., and the PIAMA study group. The effect of prenatal exposure on total IgE at birth and sensitization at twelve months and four years of age: the PIAMA study. *Pediatr Allergy Immunol* 2005, 16: 10–18.
17. Kuitunen M., Savilahti E., Sarnesto A. Human a-lactalbumin and bovine b-lactoglobulin absorption in infants. *Allergy* 1994, 49: 354–688.
18. Laan M. P., Baert M. R., Bijl A. M., Vredendaal A. E., de Waard-van der Spek F. B., Oranje A. P., Savelkoul H. F., Neijens H. J. Markers for early sensitization and inflammation in relation to clinical manifestations of atopic disease up to 2 years of age in 133 high-risk children. *Clin Exp Allergy*. 2000, 30(7): 944–53.
19. Mullins R. J. Anaphylaxis: risk factors for recurrence. *Clin Exp Allergy* 2003, 33: 1033–40.
20. Muraro A., Dreborg S., Halken S. et al. Dietary prevention of allergic diseases in infants and small children. Part II. Evaluation of methods in allergy prevention studies and sensitization markers. Definitions and diagnostic criteria of allergic diseases. *Pediatr Allergy Immunol* 2004, 15: 196–205.
21. Muraro A., Dreborg S., Halken S. et al. Dietary prevention of allergic diseases in infants and small children. Part III: critical review of published peer-reviewed observational studies and final recommendations. *Pediatr Allergy Immunol* 2004, 15: 291–307.
22. Osborn D. A., Sinn J. Soy formula for prevention of allergy and food intolerance in infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2004(3): CD003741.
23. Osborn D. A., Sinn J. Formulas containing hydrolysed protein for prevention of allergy and food intolerance in infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2007: CD 003664.
24. Rance F., Kanny G., Dutau G., Moneret-Vautrin D. A. Food hypersensitivity in children: clinical aspects and distribution of allergens. *Pediatr Allergy Immunol*. 1999, 10(1): 33–8.
25. Rozenfeld P., Docena G. H., Anon M. C., Fossati C. A. Detection and identification of a soy protein component that cross-reacts with caseins from cow's milk. *Clin Exp Immunol*. 2002, 130(1): 49–58.
26. Saarinen K. M., Savilahti E. Infant feeding patterns affect the subsequent immunological features in cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* 2000, 30: 400–6.
27. Sicherer S. H., Sampson H. A. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2006, 117: S470–5.
28. Skolnick H. S., Conover-Walker M. K., Koerner C. B., Sampson H. A., Burks W., Wood R. A. The natural history of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 107: 367–374.
29. Szaflarska-Szcepanik A., Gasiorowska J. Prevalence of soya allergy in children with cow's milk allergy. *Med Wieku Rozwoj*. 2003, 7(2): 241–8.
30. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variation of prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 351: 1225–1232, 1998.
31. Van Ree R. Specific IgE without clinical allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999, 103: 1000–1.
32. Von Mutius E., Sears M. R. Risk factors for development of asthma. *Eur Respir Mon* 2003, 23: 57–73.

33. Von Berg A., Koletzko S., Filipiak-Pittrof B. et al. Certain hydrolyzed formulas reduce the incidence of atopic dermatitis but not that of asthma: three-year results of the German Infant Nutritional Intervention Study. *J Allergy Clin Immunol* 2007, 119: 718–25.
34. Wahn U., Bergmann R. L., Nickel R. Early life markers of atopy and asthma. *Clin Exp Allergy* 1998, 28 (1): 20–1.
35. Warner J. O. In This Issue. *J Pediatric Allergy and Immun* 2008, 19; 2: 108–110.
36. Wickman M., Lilja G., Soderstrom L., van Hage-Hamsten M., Ahlstedt S. Quantitative analysis of IgE antibodies to food and inhalant allergens in 4-year-old children reflects their likelihood of allergic disease. *Allergy*. 2005, 60(5): 650–7.
37. Woods R. K., Abramson M., Bailey M., Walters E. H. International prevalences of reported food allergies and intolerances. Comparisons arising from the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS) 1991–1994. *Eur J Clin Nutr* 2001, 55: 298–304.

Summary

Background. Food allergy is becoming an increasingly worldwide problem, with an estimated 6–8% of children affected at some point in their childhood. The perceived prevalence of food allergy is even higher, with an estimated 20% of children adhering to some form of elimination diet. Against this background, accurate diagnosis is essential to prevent the imposition of unnecessarily restrictive diets on young children. Raising clinical awareness amongst health professionals regarding the clinical characteristics, epidemiology, investigation, and treatment of food allergic disorders is key to tackling this growing problem.

Methods. In a retrospective cross-sectional study, we studied 86 children aged 4 months to 13 years (the average age 33.97 months, CI 28, 13–39.8), and established sensitization to food and inhalatory allergens using the ELISA test for identification of IgE antibodies. We also evaluated the clinical manifestations of atopy, concluding that they varied with age. The mean ratio with a 95% confidence interval (CI) was calculated by applying the GraphPad programme, graphics were developed by applying the MS Excel software.

Results. Atopic dermatitis prevailed in younger children, with a tendency of decreasing incidence with age, whereas bronchial asthma and allergic rhinitis prevailed in older children, with a tendency of increasing incidence with age. Children were mostly sensitized to 3 or more food allergens. The average age of symptom appearance was 8.46 months (CI 95%, 5.72–11.2). Atopic diseases in family background were established in 31% of children. 92% of 24 children were concomitantly sensitized to cow milk and soy. We also observed that egg white provokes a more intense reaction ($P = 0.01$) when compared to egg yolk.

Conclusions. The majority of children (97%) have concomitant sensitization to multiple food allergens; however, reaching the age of three, it increases towards inhalatory allergens, and, clinically, there is a prevalence of respiratory symptoms confirming that during the first year of life food allergy is a risk factor for developing bronchial asthma at a later stage in life.

Keywords: children, allergy, IgE, risk factors.

Vēdera muskulatūras elektromiogrāfiskā aktivitāte fizisko vingrinājumu laikā

Electromyographic Activity of the Abdominal Muscles During Physical Exercises

Gundega Knipše¹, Leonīds Čupriks², Uldis Ciematnieks²,
Aleksandra Čuprika², Māris Lesčinskis²

¹Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001

²Latvijas Sporta pedagoģijas akadēmija, Brīvības gatve 333, Rīga, LV-1006

E-pasts: gundega.knipse@lu.lv

Vēdera muskulatūras attīstīšana ar vingrojumu palīdzību ir efektīvs rehabilitācijas līdzeklis. Jautājums par to, kuri vēdera muskuļi un kuri vingrojumi ir visvēlāmākie sāpju sindroma mazināšanai lumbālajā rajonā, ir debatējams. Tādēļ šī pētījuma mērķis ir izpētīt vēdera un augšstilba saliecējmuskuļu aktivāciju, veicot dažādus izometriskus vingrinājumus ar trenāzīeru iekārtām un bez tām. Elektromiogrāfiskā pētījuma rezultāti pierādīja, ka ķermeņa saliekšana ar iztaisnotām vai saliektām kājām uz grīdas ļauj sasniegt augstu vēdera muskulatūras aktivāciju, bet nelielu augšstilba fleksoru aktivāciju, savukārt ķermeņa saliekšana ar saliektām kājām, bet bez atbalsta ļauj sasniegt selektīvu vēdera taisnā muskuļa (*m. rectus abdominis*) aktivāciju. Trenāzīeru iekārtas izmantošana ļāva izvēlēties aktivizācijas pakāpi dažādiem vēdera muskuļiem, variējot slodzi un vienlaikus nodrošinot lumbālā reģiona mobilizāciju.

Atslēgvārdi: elektromiogrāfija, fiziskie vingrinājumi, vēdera muskulatūra, muskuļu elektromiogrāfiskā aktivitāte.

Ievads

Daudzus zinātniekus kā sporta, tā medicīnas jomā, sevišķi pēdējo desmitgažu laikā, interesējuši vēdera muskulatūras spēka un izturības pētījumi (1, 2, 3, 4). Vēdera muskulatūras attīstīšana ar vingrojumu palīdzību jau izsenis atzīta par nozīmīgu un efektīvu rehabilitācijas līdzekli, tā tiek izmantota dažādās sporta programmās (11, 13, 14). Klīnikā vēdera muskulatūras spēka un izturības vingrojumi visbiežāk tiek lietoti muguras sāpju sindroma rehabilitācijā. Daļa autoru (13, 16) lumbosakrālo reģionu stabilizējošos muskuļus iedala “lokālos” un “globālos”, hipotētiski pie pirmajiem pieskaitot vēdera šķērsmuskuļi (*m. transversus abdominis*) un vēdera iekšējo slīpo muskuļi (*m. obliquus internus abdominis*), bet pie otrajiem – vēdera taisno muskuļi (*m. rectus abdominis*) un vēdera ārējo slīpo muskuļi (*m. obliquus externus abdominis*). Bergmarks (7) pie tam norāda, ka lumbosakrālo reģionu stabilizē “lokālie” muskuļi, bet “globālie” muskuļi vairāk atbildīgi par ķermeņa lokomociju, kā arī par rumpja un iegurņa kustībām. Šī jautājuma izpētei visvairāk izmantota elektromiogrāfija (7, 8, 12). Literatūrā ir daudz apstiprinājumu tam, ka elektromiogrāfija lietojama kā daudzkārtēja atkārtojumu metode ar izometriskajiem vingrinājumiem, izmantojot gan adatu elektrodus, gan virsmas elektrodus (10, 15).

Vislielākā vērība tika pievērsta vēdera muskuļu un augšstilba muskuļu aktivācijas mehānisma analīzei (1, 2, 3, 9).

Metodes

Pētījums tika veikts LSPA zinātniski pētnieciskajā laboratorijā. Tika testēti 20 vīrieši vecumā no 18 līdz 22 gadiem (vidējais vecums $20 \pm 2,48$). Augums bija no 164 līdz 184 cm (vidējais garums $178,5 \pm 4,21$ cm) un ķermeņa masa no 65 līdz 92 kg (vidējā masa $81,54 \pm 3,9$ kg). Nevienam vīrietim netika novērota patoloģija vai sāpes jostas rajonā ne agrāk, ne patlaban.

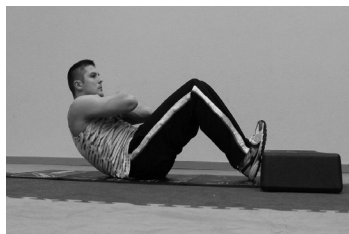
Vīrieši izpildīja izometrisko vingrinājumu sēriju vēdera muskulatūrai guļus stāvoklī bez trenāžiera un vingrinājumu sēriju vēdera muskulatūrai sēdus stāvoklī uz trenāžiera. Pavisam tika piedāvāti septiņi vingrinājumi.



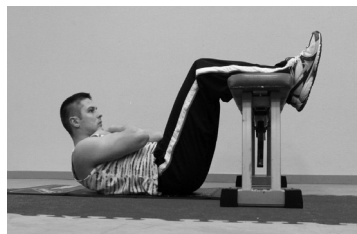
1. vingrinājums

2. vingrinājums

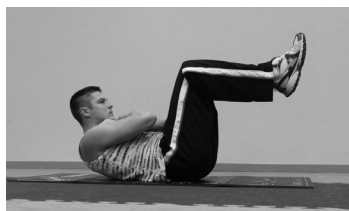
3. vingrinājums



4. vingrinājums



5. vingrinājums



6. vingrinājums

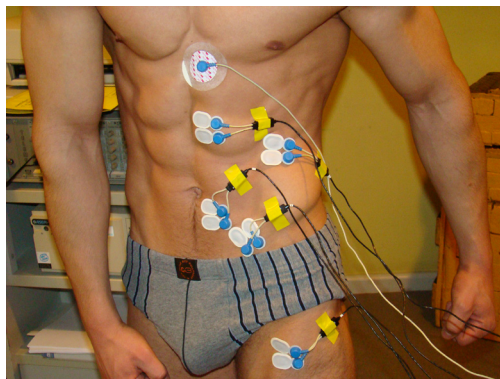


7. vingrinājums

1. attēls. Piedāvātais izometrisko vingrinājumu kopums vēdera muskulatūras un augšstilbu muskuļu aktivācijai

Figure 1. Isometrical exercises for abdominal and thigh muscle activation

Lai iegūtu izejas datus, vīrieši izpildīja patvaļīgas vēdera muskuļu un augšstilba taisnā muskuļa (*m. rectus femoris*) izometriskas kontrakcijas (6 sek.). Izometriskais leņķis tika kontrolēts ar ķermeņa augšdaļas pacelšanu līdz tādām līmenim, lai locītavas C₇-Th₄ atrastos no virsmas (5., 6., 7. vingrinājums). 4. vingrinājumam starp horizontālo virsmu un līniju, kas iet caur gūžas locītavu, tika izveidots 45° leņķis. Uz trenāžieru ierīcēm vingrinājums tika izpildīts 30° leņķī attiecībā pret vertikāli, pie tam izmeklējamā stāvoklis tika kontrolēts ar speciālu sistēmu, kas atradās trenāžiera ierīcē (1., 2. un 3. vingrinājums). Visi elektromiogrāfiskie mērījumi tika izpildīti ķermeņa kreisajā pusē. Pēc epilācijas un attiecīgas ādas apstrādes ar izopropila šķīdumu pa testējamo muskuļu gaitu, kā norādīts literatūrā (5), tika uzlikti virsmas elektrodi (2. attēls).



2. attēls. Elektrodu izvietojs izometriskajos vingrinājumos
Fig. 2. Electrods on the abdominal wall during isometrical exercises

Tika izmantoti speciāli elektrodu pāri (10 mm diametra sudraba elektrods, attālums starp elektrodiem 20 mm), kuri izvietoti šādās vietās (2. attēls):

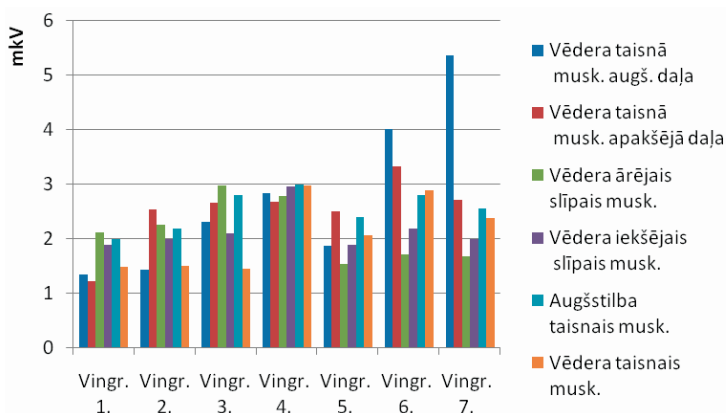
- vēdera taisnā muskuļa (*m. rectus abdominis*) augšējās daļas testēšanai – proksimālajā ceturtdaļā uz līnijas, kas savieno krūškaula zobeneveida izaugumu un simfīzi, 2 cm no viduslīnijas;
- vēdera taisnā muskuļa (*m. rectus abdominis*) apakšējās daļas testēšanai – 5 cm zem nabas gredzena un 2 cm no viduslīnijas;
- vēdera ārējā slīpā muskuļa (*m. obliquus externus abdominis*) testēšanai – 3 cm virs zarnkaula priekšējās augšējās smailes (*spina iliaca anterior superior*);
- vēdera iekšējā slīpā muskuļa (*m. obliquus internus abdominis*) testēšanai – trijstūra centrā, ko norobežo vēdera taisnā muskuļa maksts un līnija, kas savieno nabu ar zarnkaula priekšējo augšējo smaili (*spina iliaca anterior superior*);
- augšstilba taisnā muskuļa (*m. rectus femoris*) testēšanai – 20 cm zem zarnkaula priekšējās augšējās smailes (*spina iliaca anterior superior*).

Mērījumu parametrus reģistrēja elektromiogrāfs *BTS Milano*.

Iegūtie rezultāti tika apstrādāti ar matemātiskās statistikas metodēm, izmantojot variāciju analīzi un Stjūdenta t-kritēriju ($p < 0,05$).

Rezultāti

Statistiskā analīze pierādīja ievērojamu vēdera muskuļu aktivitācijas starpību ($p < 0,05$) dažādās elektrodu vietās (3. attēls). Lielākajā daļā vingrinājumu tika uzrādīta augsta aktivitāte vēdera taisnā muskuļa (*m. rectus abdominis*) augšējā un apakšējā daļā. Vēdera slīpie muskuļi – vēdera iekšējais slīpā muskulis (*m. obliquus internus abdominis*) un vēdera ārējais slīpā muskulis (*m. obliquus externus abdominis*), kā arī augšstilba taisnā muskulis (*m. rectus femoris*) uzrādīja pretēju rezultātu – aktivitātes pazemināšanos.



3. att. EMG vidējie rādītāji izometriskajos vingrinājumos

Fig. 3. Electromyographical parameters during physical exercises

Maksimāla vēdera taisnā muskuļa (*m. rectus abdominis*) augšdaļas aktivitāte tika panākta 6. vingrinājuma laikā (1. att., 1., 2. tab.) ar saliektām kājām 90° leņķī bez atbalsta un 7. vingrinājumā ar iztaisnotām kājām. Vēdera taisnā muskuļa (*m. rectus abdominis*) augšējās daļas aktivitāte bija minimāla, izpildot 1. vingrinājumu ar slodzi 2,5 kg (1. tab.) un 2. vingrinājumu ar slodzi 25% no ķermeņa masas (1. tab.). Maksimālā aktivitāte vēdera taisnā muskuļa (*m. rectus abdominis*) apakšējā daļā tika reģistrēta 6. vingrinājuma izpildes laikā ar fiksētām kājām 90° leņķī bez atbalsta (2. tab.), bet minimālā – 1. vingrinājuma izpildes laikā ar minimālo slodzi 2,5 kg (1. tab.). Vēdera ārējā slīpā muskuļa (*m. obliquus externus abdominis*) maksimālā aktivitāte tika sasniegta 4. vingrinājuma laikā, kā arī izpildot 3. vingrinājumu ar slodzi, kas atbilst 50% no ķermeņa svara (1. tab.). Vēdera ārējais slīpā muskulis (*m. obliquus externus abdominis*) uzrādīja vismazāko aktivitāti, izpildot 5. un 6. vingrinājumu. Abi vēdera slīpie muskuļi – gan vēdera ārējais slīpā muskulis (*m. obliquus externus abdominis*), gan vēdera iekšējais slīpā muskulis (*m. obliquus internus abdominis*) – visvairāk tika aktivizēti, izpildot 4. vingrinājumu (1. tab.), kaut gan vēdera iekšējā slīpā muskuļa (*m. obliquus internus abdominis*) aktivitāte salīdzinoši bija zemāka. Augšstilba taisnā muskulis (*m. rectus femoris*) visvairāk aktivizējās, izpildot 3., 4. un 6. vingrinājumu (1. att., 1., 2. tab.).

1. tabula

Muskuļu elektromiogrāfiskās aktivitātes dinamika 1.–4. vingrinājumā***Dynamics of electromyographic activity during exercise 1–4***

Muskuļu nosaukums	Pirmais vingrinājums		Otrais vingrinājums		Trešais vingrinājums		Ceturtais vingrinājums	
	EMG parametri		EMG parametri		EMG parametri		EMG parametri	
	Amplitūda (mkV)	Pīķu skaits	Amplitūda (mkV)	Pīķu skaits	Amplitūda (mkV)	Pīķu skaits	Amplitūda (mkV)	Pīķu skaits
Vēdera taisnā muskuļa augšējā daļa	134,5 ± 9,8	46,8 ± 7,3	143,2 ± 10,8	56,8 ± 7,3	230,9 ± 20,7	35,6 ± 7,3	284,9 ± 16,9	93,2 ± 7,2
Vēdera taisnā muskuļa apakšējā daļa	122,3 ± 11,7	36,3 ± 2,5	255,2 ± 17,9	115,5 ± 10,8	267,1 ± 9,7	101,5 ± 8,1	268,3 ± 46,5	70,4 ± 3,5
Vēdera ārējais slīpais muskulis	211,9 ± 4,3	73,5 ± 10,7	225,7 ± 3,7	88,3 ± 7,1	298,7 ± 27,2	53,6 ± 3,7	278,1 ± 36,5	80,6 ± 5,3
Vēdera iekšējais slīpais muskulis	190,1 ± 17,2	68,1 ± 19,9	199,7 ± 13,3	58,7 ± 23,2	210,1 ± 12,7	48,7 ± 13,3	296,3 ± 24,3	93,9 ± 12,7
Augšstilba taisnais muskulis	200,3 ± 12,7	115,4 ± 19,1	220,1 ± 17,2	95,1 ± 11,9	281,1 ± 21,5	116,8 ± 6,5	299,2 ± 20,1	111,7 ± 19,2
Vēdera taisnais muskulis	149,8 ± 21,3	61,4 ± 7,1	151,3 ± 12,3	54,6 ± 17,7	145,5 ± 10,9	47,6 ± 7,1	297,6 ± 12,1	109,3 ± 22,3

2. tabula

Muskuļu elektromiogrāfiskās aktivitātes dinamika 5.–7. vingrinājumā***Dynamics of electromyographic activity during exercise 5–7***

Muskuļu nosaukums	Piektais vingrinājums		Sestais vingrinājums		Septītais vingrinājums	
	EMG parametri		EMG parametri		EMG parametri	
	Amplitūda (mkV)	Pīķu skaits	Amplitūda (mkV)	Pīķu skaits	Amplitūda (mkV)	Pīķu skaits
Vēdera taisnā muskuļa augšējā daļa	186,9 ± 22,6	48,1 ± 1,9	401,2 ± 18,7	130,7 ± 7,0	536,4 ± 35,8	135,7 ± 7,2
Vēdera taisnā muskuļa apakšējā daļa	250,3 ± 17,5	61,7 ± 7,5	333,4 ± 25,7	101,7 ± 5,9	271,4 ± 15,7	91,7 ± 5,7
Vēdera ārējais slīpais muskulis	154,3 ± 15,3	70,2 ± 3,5	172,8 ± 8,1	58,7 ± 10,2	168,7 ± 5,1	48,7 ± 4,5
Vēdera iekšējais slīpais muskulis	190,0 ± 9,4	43,9 ± 3,9	220,1 ± 14,3	73,9 ± 6,4	200,1 ± 14,9	83,9 ± 1,9
Augšstilba taisnais muskulis	240,9 ± 10,1	97,5 ± 12,9	280,1 ± 7,7	73,2 ± 15,2	255,3 ± 11,9	83,7 ± 15,1
Vēdera taisnais muskulis	207,4 ± 7,1	100,7 ± 5,2	289,9 ± 17,3	115,1 ± 7,2	239,4 ± 9,7	91,9 ± 20,7

Diskusija

Ir zināms, ka vēdera muskuļi vienmēr strādā kompleksā, bet ar dažādu intensitātes pakāpi, kura atkarīga no konkrētā vingrinājuma. Plānojot vēdera muskulatūras nostiprināšanas vingrinājumu programmu, nepieciešams ļoti daudz dažādu vingrinājumu, bez tam vingrinājumu iedarbība atšķiras, un atšķiras dažādu autoru viedoklis par vingrinājumu iedarbību uz vēdera muskuļiem (7). Vingrinājumi vēdera muskulatūrai var būt kā treniņu programmas komponents vai arī kā medicīniska rekomendācija lumbālā reģiona patoloģiju ārstēšanā. Ja vingrinājumi ir paredzēti kā ārstnieciskais komponents, tad svarīgi, lai tie tiktu izpildīti bez lumbālā reģiona pārslodzes (13).

Interesanti atzīmēt, ka testu laikā vēdera taisnā muskuļa (*m. rectus abdominis*) aktivizācija bija ievērojami augstāka, nekā tā ir maksimāla patvaļīga sasprindzinājuma laikā (guļot uz muguras ar iztaisnotām kājām, 7. vingrinājums). Šie rezultāti apliecina, ka, iespējams, vēdera taisnais muskulis (*m. rectus abdominis*) mazāk piedalās intraabdominālā spiediena paaugstināšanā, bet vairāk aktivizējas ķermeņa fleksijā attiecībā pret iegurni, kas arī tika novērots 4. vingrinājumā atšķirībā no citiem vingrinājumiem. Šī paša vingrinājuma laikā tika novērota arī augšstilba taisnā muskuļa (*m. rectus femoris*) aktivācija, kas vienlaikus ar vēdera taisno muskuli (*m. rectus abdominis*) fleksijā pastiprina pēdējā darbību. Šo abu muskuļu potencējošo darbību vislabāk nodrošina 4. un 6. vingrinājums ar fiksētām abām kājām 90° leņķī bez atbalsta.

Rumpja fleksijas un ekstenzijas laikā jostas rajonā dažkārt var novērot nepastāvīgu spiedienu, kas parasti saistās arī ar intraabdominālā spiediena paaugstināšanos. To varētu izraisīt muskuļu “pret darbība” (ķermeņa pagrieziens pretī muskuļu darbībai), kas veicina hiperlordozes veidošanos. Tomēr vēdera muskuļi paši par sevi nevar izraisīt hiperlordozi, bet tikai kombinācijā ar pastiprinātu augšstilba muskuļu aktivāciju. Šādā gadījumā vēdera muskulatūras vingrinājumi var kļūt bīstami lumbālajam reģionam.

Vingrinājumi trenāžieru iekārtā norādīja uz muskulatūras aktivācijas izmaiņām atkarībā no slodzes. Ar minimālu slodzi (2,5 kg) novērota ievērojami mazāka vēdera muskulatūras un arī augšstilba taisnā muskuļa (*m. rectus femoris*) aktivācija. Vingrinājumos uz trenāžiera tas jāņem vērā, ja nepieciešama aktīva jostas rajona mobilizācija, izpildot rumpja fleksiju ar samazinātu slodzi.

Ar slodzi 50% apmērā no ķermeņa masas ļoti intensificējas vēdera muskulatūras aktivācija un augšstilba taisnā muskuļa (*m. rectus femoris*) aktivācija. Izpildot vingrinājumus trenāžieru iekārtā, vislabākā muskuļu aktivitātes sabalansētība starp vēdera muskulatūru un izolētu augšstilba fleksiju tika novērota ar 25% slodzi no ķermeņa masas. Pētījuma rezultāti pierādīja, ka ar mērenām slodzēm trenāžiera iekārtās un vingrinājumos ar ķermeņa masu pat vēdera ārējais slīpais muskulis (*m. obliquus externus abdominis*) un vēdera iekšējais slīpais muskulis (*m. obliquus internus abdominis*) netika pietiekami intensīvi aktivizēti. 6. vingrinājuma (ar saliektām kājām) un 7. vingrinājuma (ar iztaisnotām kājām) izpilde deva iespēju stiprināt vēdera taisno muskuli (*m. rectus abdominis*) gan tā augšējā, gan apakšējā daļā ar attiecīgi nelielu augšstilba fleksoru aktivāciju. Savukārt 7. vingrinājums ar iztaisnotām kājām ļauj trenēt vēdera muskulatūru, uzturot augstu augšstilba fleksoru aktivitāti.

Secinājumi

Pētījuma rezultāti pierādīja, ka rumpja saliekšana ar iztaisnotām vai saliektām kājām uz grīdas ļauj sasniegt augstu vēdera muskulatūras aktivāciju, bet nelielu augšstilba fleksoru aktivāciju. Turpretī rumpja saliekšana ar saliektām kājām, bet bez atbalsta (4., 6. vingrinājums) ļauj sasniegt selektīvu vēdera taisnā muskuļa (*m. rectus abdominis*) aktivāciju. Trenažieru iekārtas izmantošana izometriskajos vingrinājumos ļāva izvēlēties aktivizācijas pakāpes dažādiem muskuļiem, variējot slodzi. Atzīmējama trenažieru iekārtas nozīme lumbālā reģiona mobilizācijai, kā arī treniņiem ar slodzi 50% apmērā no ķermeņa masas.

Literatūra

1. Andersson E., Oddson L., Grudstrom H., Thorstensson A. The role of the psoas and the iliacus muscles for stability and movement of the lumbar spine, pelvis and hip. *Scand J Med Sci Sports* 5: 10–16, 1995.
2. Andersson E., Nilsson J., Ma Z., Thorstensson A. Abdominal and hip flexor muscle activation during various training exercises. *Eur J Appl Physiol* 75: 115–123, 1997.
3. Andersson E., Ma Z., Nilsson J., Thorstensson A. Abdominal and hip flexor muscle involvement in various training exercises. *Proceedings of the 12th Congress of the International Society of Biomechanics, Los Angeles, USA, 254–255, 1989.*
4. Axler C. T., McGill S. M. Low back loads over a variety of abdominal exercises: searching for the safest abdominal challenge. *Med. Sci. Sports Exer.* Vol. 29, No. 6, 804–810, 1997.
5. Basmajian J. V., Blaumenstein R. *Electrode placement for EMG biofeedback.* Baltimore, MD, Williams & Wilkins, 1980.
6. Beim G. M., Giraldo J. L., Pincivero D. M., Borrer M. J., Fu H. F. Abdominal strengthening exercises: a comparative EMG study. *J. Sports Rehab.* Vol. 6, No. 1, 1997.
7. Bergmark A. Stability of the lumbar spine: a study in mechanical engineering. *Acta. Ortop. Scand.* 1989, 220: 20–24 .
8. Floyd W. F., Silver P. H. S. Electromyographic study of patterns of activity of the anterior abdominal wall muscles in man. *J Anat* 1950, 84: 132–45.
9. Fujiwara M., Basmajian J. V. Electromyographic study of two joint muscles. *Am J Phys Med* 54: 234–242, 1975.
10. Godfrey K. E., Kindig L. E., Windell E. J. Electromyographic study of duration of muscle activity in sit-up variations. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 58: 132–135, 1977.
11. Jette M., Sidney K., Cicutti N. A critical analysis of sit-ups: a case of partial curl-up as a test of abdominal muscular endurance. *Can. J. Phys. Educ. Rec.* Sept.-Oct., 1984, 4–9.
12. Lipez S., Gutin B. An electromyographic study of the four abdominal exercises. *Med Sci Sports* 2: 35–38, 1970.
13. Nachemson A. The load on lumbar disks in different positions of the body. *Clin. Orth.* 45: 107–112, 1966.
14. Smidt G. T., Amudsen L. R., Dostal W. F. Muscle strength at the trunk. *J Orthop Sports Phys Ther* 1980, 1: 165–170.
15. Suzuki N., Endo S. A quantitative study of trunk muscle strength and fatigability in the low-back pain syndrome. *Spine* 1983, 8: 69–74.

16. Viitsalo J. H., Komi P. V. Signal characteristics of EMG with special reference to reproducibility of measurement. *Acta Physiol Scand* 93: 53–539.
17. Yang J. F., Winter D. A. Electromyography reliability in maximal and submaximal isometric contractions. *Arch Phys Med Rehabil* 64: 417–420.

Summary

Development of the abdominal muscles with the help of exercise is an effective means of rehabilitation. The question of which abdominal muscles and what exercises are the most favourable to decrease the pain syndrome in the lumbar area is still under discussion. Therefore, the aim of our research was to investigate the activation of the abdominal and thigh flexor muscles by doing different isometric exercises with training equipment and without it. The results of the electromyographic study proved the fact that flexion of the body on the floor with the legs straight or bent allows to achieve high activation of the abdominal muscles, but slight activation of the thigh flexor muscles; however, flexion of the body with the legs bent without a support allows to achieve selective activation of the abdominal muscles. The usage of training equipment allowed us to choose activation degrees for different abdominal muscles and to vary the loads, at the same time providing the mobilization of the lumbar area.

Keywords: *electromyography, physical exercise, abdominal muscles, electromyographic activity of muscles.*

Koagulāzes negatīvo stafilokoku (KONS) virulences izpēte *Virulence Factors of Coagulase-Negative Staphylococci*

Aija Žileviča, Tatjana Tračevska

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001

E-pasts: aija.zilevica@apollo.lv

Pēdējo divu gadu desmitu laikā ir ievērojami pieaudzis koagulāzes negatīvo stafilokoku izraisīto infekciju skaits, sevišķi grupas galvenā pārstāvja *S. epidermidis* infekciju skaits. Līdz ar to ir aktualizējies jautājums par šo mikroorganismu patogenitāti un virulences faktoriem. Tagad tie ir vispārārtīti nosacīti patogēni ar dažādu virulences faktoru ekspresijas pakāpi. Galvenais koagulāzes negatīvo stafilokoku virulences faktors ir spēja veidot biofilmu. To savukārt nosaka primārās un sekundārās adhēzijas, kā arī intercelulārās adhēzijas faktori. Lai diferencētu komensālos mikroorganismu celmus no kolonizējošiem un invazīviem celmiem, var izmantot fenotipiskās metodes, nosakot antibiogrammas, bioķīmiskās īpašības, ekstracelulāro polisaharīdu sintēzi, kā arī genotipiskās metodes, pētot adhezīnu gēnu un regulējošo gēnu ekspresijas pakāpi.

Atslēgvārdi: koagulāzes negatīvie stafilokoki, virulence, patogenitāte.

Divu pēdējo gadu desmitu laikā koagulāzes negatīvie stafilokoki ir izraisījuši pastiprinātu zinātnieku interesi un kļuvuši par intensīvas izpētes objektu. Tas saistāms ar ievērojamu šīs grupas mikroorganismu ierosināto infekciju pieaugumu. KONS ir ļoti plaša mikroorganismu grupa. Kopā ir zināms vairāk par 30 KONS sugu. Tos savstarpēji diferencē divās daļās pēc jutīguma pret novobiocīnu. Pret novobiocīnu rezistenti ir *S. epidermidis* un virkne tam radniecīgu citu KONS sugu jeb t. s. *S. epidermidis* grupa. Ja runa ir par visu grupu, mēdz lietot terminu *S. epidermidis sensu lato*. Pret novobiocīnu jutīgi ir *S. saprophyticus* grupas pārstāvji.

Apmēram puse no KONS sugām ir cilvēku parazitāri, pārējie – dzīvnieku. Pēdējā laikā bieži cilvēka organismā ir sastopami arī dzīvniekiem raksturīgie stafilokoki, kā *S. felis*, *S. kloosii* u. c.

Koagulāzes negatīvie stafilokoki pieder pie cilvēka normālās mikrofloras pārstāvjiem. Tie veido t. s. obligāto jeb rezidentu mikrofloru un ir atrodamī katram cilvēkam. KONS kolonizē arī gļotādas (2, 18, 19, 20).

Kā vadošais un izplatītākais KONS grupas pārstāvis minams *S. epidermidis sensu stricto*.

Galvenais zinātnieku intereses objekts KONS grupas izpētē ir mikroorganismu virulence – tās faktori un ekspresijas pakāpe. Šai jomā uzskati gadu gaitā ir radikāli mainījušies.

Vēl pagājušā gadsimta 50. gados KONS uzlūkoja par nepatogēniem ādas komensāliem, bet, ja tie izdalīti no klīniskā materiāla, – par nekaitīgiem kontaminantiem.

Pirmie pierādījumi par šīs grupas mikroorganismu patogēno potenciālu parādījās 1962. gadā, kad atklāja *S. saprophyticus* lomu urīnceļu infekciju izcelsmē. Tomēr tālāki pētījumi netika veikti, jo plaši izplatītais uzskats par KONS nepatogēno dabu neizraisīja pētniekos interesi par tiem un līdz ar to kavēja darbu šai virzienā.

Uzskati mainījās tikai pagājušā gadsimta 80. gadu beigās, 90. gadu sākumā, kad ļoti spilgti un uzskatāmi pierādījās KONS loma nozokomiālo infekciju izcelsmē.

Šajā laika periodā klīniskajā praksē strauji pieauga invazīvo procedūru lietošana – plaši sāka izmantot intravaskulāros katetrus un citus polimēru materiālus, protēzes utt. Tādēļ klīnikās parādījās jauna nozoloģiska slimību vienība – katetru jeb polimērasociētā infekcija. Ap 60–70% gadījumu tās ierosinātāji bija KONS.

Tika arī konstatēts, ka koagulāzes negatīvie stafilokoki var ierosināt saslimšanu imūnsupresīvos organismos, ieskaitot jaundzimušos, onkoloģiskos slimniekus, ilgi ārstētus slimniekus utt. Uzkrājās dati par to, ka KONS spēj ierosināt visdažādākos piogēnos procesus, no kuriem vadošie ir bakterēmija, endokardīts (tas var skart gan mākslīgās, gan dabīgās vārstules), septisks artrīts, peritonīts, mediastinīts, šuntu un katetru infekcijas, osteomielīts, prostatīts, urīnceļu infekcijas u. c.

Klīnisko manifestāciju dažādība ir raksturīga galvenokārt *S. epidermidis* grupas pārstāvjiem. *S. epidermidis sensu stricto* visbiežāk izraisa katetru un protēžu infekciju ar bakterēmiju, brūču infekciju, peritonītu peritoneālās dialīzes gadījumā un osteomielītu. *S. haemolyticus* izraisa bakterēmiju un endokardītu, brūču, locītavu, kaulu infekcijas. Klīniski nozīmīgi piogēno infekciju ierosinātāji ir arī *S. hominis*, *S. warneri*, *S. simulans*, *S. capitis* u. c.

S. saprophyticus ierosina galvenokārt urīnceļu infekcijas un septiskus procesus. Tātad KONS grupas pārstāvji ierosina dažādas nozokomiālo infekciju klīniskas manifestācijas, bet to galvenā loma ir bakterēmijas ierosināšanā – līdz 36% no visām bakterēmijām ir KONS izraisītas, un 70–75% gadījumu tie ir katetrus kolonizējošā flora.

Līdz ar to pagājušā gadsimta beigās pilnībā tika pieņemts uzskats, ka šīs grupas mikroorganismi ir vērtējami nevis kā nepatogēni komensāli, bet gan kā nosacīti patogēni aģenti.

90. gados pat parādījās priekšlikums iekļaut *S. epidermidis* patogēnajos mikroorganismos. Tas gan attiecas tikai uz noteiktiem *S. epidermidis* celmiem, kas izveidojušies par stabiliem virulentiem sugas variantiem, izplatās slimnīcās un visbiežāk ir arī polirezistenti (4, 13).

KONS ir grampozitīvi, fakultatīvi anaerobi, nekustīgi, asporogēni, katalāzes pozitīvi mikroorganismi, kas reizēm veido plānu mikrokapsulu. To avots ir cilvēka āda. Mikroorganismu daudzums uz ādas variē starp 10^3 un $10^6/\text{cm}^2$. Vairāk to ir mitrajās vietās – nāsīs, aksillās, perinejā. Arī sugu sadalījums nav visur vienāds. Tā *S. capitis* prevalējošais ir galvas ādas un matu mikroflorā, kā arī uz sejas, *S. haemolyticus* un *S. hominis* visbiežāk sastopami ingvinālajā rajonā un aksillās, *S. auricularis* – ausu ejās. *S. epidermidis* atrodas visur.

Slimnīcās izplatās stafilokoku nozokomiālie jeb hospitālie celmi, kur avots var būt gan citi slimnieki, gan personāls.

Par to, kā KONS ierosina patoloģiskus procesus, kāda ir slimību patoģenēze, kādi ir KONS virulences faktori, vēl līdz šim nav daudz informācijas.

KONS neproducē daudz toksīnu vai degradējošu eksoenzīmu. Pašreiz zināmi tikai daži šīs grupas faktori.

Toksīni: delta toksīns – vienīgais toksīns ar hemolītisku aktivitāti; tā sintēzi nosaka *hed* gēns, kas lokalizēts *agr* lokusā.

Enzīmi:

- 1) ekstracelulāra metaloproteāze un cisteīna proteāze, kam abām piemīt elastāzes aktivitāte. Tās šķeļ dažādus saimnieka organisma proteīnus: IgA, IgM, sēruma albumīnu, fibrinogēnu, fibronektīnu (*sloot*);
- 2) divas līdzīgas lipāzes un enzīmi, kas modificē taukskābes. Uzskata, ka tie sekmē ādas kolonizāciju.

Tātad no konvencionālajiem virulences faktoriem šeit ir sastopami tikai daži (7, 14). Tas nozīmē, ka KONS virulences faktori ir atšķirīgi no vairuma mikroorganismu faktoriem, un šeit darbojas oriģināli mehānismi. Līdz šim ir zināms tikai viens šāds mehānisms, un tā ir KONS spēja veidot biofilmas, ko arī uzlūko par vienu no galvenajiem stafilokoku virulenci noteicošajiem faktoriem (1, 8, 9).

Biofilma ir koagregatīva mikroorganismu populācija, kas veidojas kādā virsmā, piemēram, katetra virsmā. Biofilmas veidošanās process tiek pētīts jau gadus divdesmit, tomēr daudz kas vēl nav izziņāts.

Process sākas no mikroorganismu migrācijas un piestiprināšanās pie katetra (iekārtas) virsmas. To daudzējādā ziņā nosaka virsmas struktūra, kā arī mikroorganismu receptori.

Sākotnēji darbojas t. s. nespecifiskie spēki, kas sekmē mikroorganismu pieķeršanos pie objekta virsmas. Tā ir elektrostatiskā mijiedarbība, van der Vālsa spēki, baktēriju virsmas hidrofobās īpašības. *Adherenci* stabilizē nespecifiskie mikroorganismu virsmas adhezīni – pili, fimbrijas, viciņas, glikokalīkss u. c. Bet daudziem mikroorganismiem piemīt arī specifiski receptori, kas ļauj tiem piestiprināties pie svešķermeņu virsmas. Bez tam – tikko svešķermeni ir nokļājušas saimniekorganisma olbaltumvielas, sāk darboties mikroorganismu virsmas receptori pret tām. Visa tā dēļ ļoti daudz baktēriju adherējas pie svešķermeņu virsmas.

Kad baktērijas ir piestiprinājušās, tās sāk dalīties, veido mikrokolonijas un sāk producēt ekstracelulārus polimērus, galvenokārt polisaharīdus. Veidojas heterogēna masa, kas klāj katetra virsmu. Šai masā var ietilpt arī dažādas citas daļiņas – minerāli, fibrīns, eritrocīti, plātnītes. Biofilmas biežums var būt ievērojams, tādēļ šai masā rodas “kanāli”, kas ļauj iekļūt skābeklim un barības vielām, lai nodrošinātu dziļumā esošās baktērijas.

Biofilmā esošie mikroorganismi maina savas fenotipiskās īpašības – mainās augšanas ātrums, tas ir mazāks nekā citām baktērijām, samazinās gēnu transkripcija. Samazinās arī jutība pret antibakteriālajiem preparātiem. Praktiski tas nozīmē, ka terapijas nolūkos slimniekiem jānodrošina lielākas preparātu devas. Var minēt vairākus faktorus, kādēļ biofilmas mikroorganismu jutība pret preparātiem ir zemāka.

1. Antibakteriālajam preparātam vajag difundēt cauri slānim, kas, izrādās, spēj saistīt un pat inaktivēt to.
2. Mikroorganismiem ir pazemināts metabolisms.
3. Mikrovide biofilmā aizsargā mikroorganismu, neļauj preparātam pie tā piekļūt.
4. Starp mikroorganismiem var notikt apmaiņa ar plazmīdām, t. sk. R-plazmīdu.

Biofilmā fiksētie mikroorganismi ir ne tikai pasargāti no antibakteriālajiem preparātiem, bet arī no organisma aizsargspēkiem – fagocītiem, antivielām.

Kad biofilma ir izveidojusies, mikroorganismi no tās var atrauties, tādējādi radot sistēmas infekciju – bakterēmiju.

Tātad biofilmas veidošanā var izšķirt četrus posmus:

- 1) primārā mikroorganismu adherence pie katetra virsmas,
- 2) mikroorganismu adherence pie saimnieka organisma proteīniem,
- 3) mikroorganismu akumulācija – intercelulārā adhēzija, proliferācija,
- 4) mikroorganismu atrašanās un alternatīvu reģionu kolonizācija.

Tā kā stafilokoku īpatnība ir tā, ka tie ļoti labi adherējas pie dažādu polimēru virsmām un labi veido biofilmas, ir izskaidrojama to spēja ierosināt t. s. polimērasociētās jeb katetru infekcijas (3, 5, 10, 11).

Stafilokoku adherence procesu nosaka, no vienas puses, polimēra fizikāli ķīmiskās īpašības, galvenokārt virsmas hidrofobisms, no otras puses, mikroorganisma īpašības – arī virsmas hidrofobisms un receptori. No receptoriem pirmkārt minams autolizīns AtlE.

Autolizīni ir peptidoglikāna hidrolāzes, kam ir nozīme šūnas sienas atjaunošanās un dalīšanās procesā, bet paralēli tie darbojas kā adhēzijas faktori. Kā jau minēts, mikroorganismu adherenci iedala primārajā – tā ir tieša adherence pie substrāta (svešķermeņa) un sekundārajā – pie saimnieka organisma proteīniem.

AtlE tiek uzlūkots par galveno primāro adhēzīnu un uzskata, ka tam ir izšķiroša nozīme stafilokoku izraisīto slimību patogēnēzē. Eksperimenti parāda, ka AtlE negatīvi *S. epidermidis* celmi izraisa uz pusi mazāk katetru infekciju nekā AtlE pozitīvi celmi (3, 12).

No citiem primārās adhēzijas faktoriem vēl jāmin ar šūnas sienu asociētais proteīns Ssp1, kas izvietots fimbrijas tipa struktūrā un viegli saistās pie polistirēna, kā arī kapsulas polisaharīdu adhēzīns PSIA. Tas ļoti līdzīgs intercelulārajam polisaharīdu adhēzīnam PIA (17).

Arī sekundārā adhēzija ir ļoti nozīmīga stafilokoku infekcijas procesā. Ļoti drīz pēc polimēra ievietošanas organismā to noklāj saimnieka proteīni. Te jāmin albumīns, fibronektīns, fibrinogēns, kolagēns, vitronektīns u. c., ko sauc par ekstracelulārajām matriksa molekulām ECM. Tā kā šis process norit ļoti ātri, var apšaubīt, ka primārajai adherencei pie abiotiskā materiāla ir vadošā loma polimērasociētās infekcijas attīstībā.

Autolizīns AtlE piedalās ne tikai primārajā adherencē, bet arī sekundārajā, jo spēj saistīties ar vitronektīnu (11, 17). Tomēr eksistē arī specifiski sekundārās adherences receptori. Tā *S. epidermidis* šūnās ir atrasti šādi faktori, kas nodrošina saistīšanos pie cilvēka proteīniem:

- 1) fibrinogēnu saistošais proteīns Fbe;
- 2) fibronektīnu saistošais proteīns Embp (*S. epidermidis* teihoskābes arī saista fibronektīnu).

Kopā ir zināmi pieci šādi proteīni, diemžēl pārējie trīs nav pilnībā izpētīti, un par tiem ir maz fakto.

Tā kā saimniekorganisma proteīnu adhēzijas process uz svešķermeņiem norit ļoti ātri, var apšaubīt kādreiz izteikto hipotēzi par primārās adherences pie abiotiskā materiāla vadošo lomu polimērasociētās infekcijas attīstībā.

Kā jau minēts, autolizīns AtlE arī piedalās ne tikai primārajā adherencē, bet arī sekundārajā, jo spēj saistīties ar vitronektīnu.

Otrā fāze biofilmas attīstībā ir daudzslāņainu šūnu konglomerātu veidošanās uz plastikāta virsmas. To sekmē vairāki faktori. Pirmkārt, adherētie stafilokoki izdala ekstracelulārus polimērus – gļotas, kurās ielīp planktoniskās mikroorganismu šūnas. Otrkārt, stafilokoki ar saviem adhēzijas faktoriem saistās cits pie cita, tādējādi nodrošinādami šūnu akumulāciju. Stafilokoku adhēzijas molekulām ir gan proteīnu, gan polisaharīdu daba.

Visvairāk pētītais faktors ir PIA (polisaharīdu intercelulārais adhezīns). Tas ir homoglikāns, 2-deoksi-2 amino-D glikopiranozila homopolimērs, kas satur nedaudz fosfātu un sukcinātu. To tagad uzlūko par vienu no galvenajiem *S. epidermidis* virulences faktoriem, un parasti tas ir saistīts ar meticilīnrezistenci. Ļoti līdzīgs ir PNSG (poli-N-sukcinilglikozamīns), kas pilda to pašu funkciju.

PIA produkciju nosaka ica ADBC operons – tas kodē virkni biosintētisku enzīmu, kuru darbībā veidojas PIA (15, 16).

Ica A ir ar N-acetilglikozamīna transferāzes aktivitāti, kas pastiprinās ica D ekspresijas klātbūtnē. Veidojas N-acetiloligomēri, ko savieno ica C. Ica B funkcija nav skaidra.

Ica operona transkripcija ir atkarīga no O₂, CO₂ koncentrācijas, bet sevišķi no glikozes koncentrācijas. Ir parādīts, ka ica operons ir reti sastopams tajos stafilokoku celmos, kas izdalīti ārpus klīniskās aprūpes iestādēm, tātad eventuāli ir saistīts ar nozokomiālajām infekcijām.

Bez jau minētajiem polisaharīdu dabas intercelulārajiem adhezīniem stafilokokiem piemīt arī proteīnu dabas adhezīni. Nesen aprakstīts *S. epidermidis* ar akumulāciju asociētais proteīns Aap. Tas novietots mikroorganisma šūnas sienā un piedalās biofilmas veidošanā. Eksperimenti rāda, ka Aap ir vairāk izteikts klīniskajiem izolātiem, kā komensāliem mikroorganismiem. Aap proteīnu kodējošais aap gēns, līdzīgi kā augšminētais ica operona gēns icaA, ir biežāk konstatējams nozokomiālajos izolātos, sevišķi bakterēmijas izraisītājos (15).

Pie stafilokoku virulences faktoriem vēl minams fenolā šķīstošais peptīdu komplekss (FSP), kas aktivē makroorganisma aizsardzības sistēmu – tas pastiprina iekaisuma reakciju, stimulējot TNF- α sintēzi un neitrofilu hemotaksi.

Ļoti būtisks ir jautājums par virulences gēnu ekspresijas regulāciju.

Pētot virulences regulāciju koagulāzes pozitīvajā *S. aureus*, tika atklāts agr lokuss (*accessory gene regulator*), kas regulē virulences faktoru ekspresiju. Tā ir t. s. *quorum-sensing* (QS) sistēma jeb šūnu interkomunikāciju sistēma, kas regulē daudzus mikroorganisma gēnus atkarībā no šūnu blīvuma. Vēlāk parādījās dati par vēl diviem regulētājiem – sar faktoru un sigma B (sig B) faktoru.

Visi šie trīs lokusi – agr, sas, sig B – ir atrodami arī *S. epidermidis* genomā. Ir zināms, ka agr gēns arī koagulāzes negatīvajos stafilokokos ir virulences regulētājs, piemēram, regulē AtlE produkciju, bet, tā kā tas ir sastopams arī nepatogēnajos mikroorganismu celmos, jādomā, ka tam ir plašākas funkcijas.

Sar un sig B lokusi regulē biofilmas veidošanos.

Pirms dažiem gadiem stafilokokos tika atklāta jauna interkomunikāciju sistēma, ko nosauca par luxS sistēmu. *In vitro* modeļos tika parādīts, ka luxS sistēmai ir ārkārtīgi liela nozīme biofilmas veidošanās procesā (21).

QS sistēma kontrolē dažādu gēnu ekspresiju, izmantojot mazas molekulas – autoinducētājus (AIs). Izrādās, ka luxS sistēma ir nepieciešama autoinducētāju sintēzei. Mūsdienās ir zināms diezgan plašs autoinducētāju klāsts. *S. epidermidis* šūnās darbojas AI-2. Pašreiz aktīvi tiek pētītas šīs signālmolekulas funkcijas. Ir noskaidrots, ka AI-2 piedalās vairāku gēnu ekspresijas kontrolē, tai skaitā virulences gēnu regulācijā, jo regulē fenolā šķīstošo modulīnu (PSM) peptīdus (21).

Kā jau minēts, koagulāzes negatīvo stafilokoku virulences pētījumi ir tikai iesākti. Līdz šim vēl nav formulēti kritēriji, kas ļautu atšķirt nepatogēnus kontaminantus no klīniski svarīgiem virulentiem celmiem ar kolonizējošām un invazīvām īpašībām.

Pētījumi tiek veikti, izmantojot gan fenotipiskās, gan genotipiskās pazīmes. No fenotipiskajām īpašībām visvairāk pētīta ir ekstracelulāro polisaharīdu produkcija, hemolītiskā spēja, lecitināzes, lipāzes, dezoksiribonukleāzes u. c. eksofermentu aktivitāte. Iegūtie rezultāti nav devuši pārlicinošu informāciju par kritēriju specifitāti.

Ar genotipiskajām metodēm pētīti polisaharīdu un proteīnu dabas adhezīnu PIA un aap ģenētiskie determinanti.

Ir eksperimentāli un klīniski pierādījumi par korelāciju starp ica operona ekspresiju un stafilokoku virulenci polimērasociētās infekcijas modeļos.

Ica gēnu, it sevišķi ica A, klātbūtne izmantota, lai salīdzinātu nepatogēnos un patogēnos *S. epidermidis* celmus, precīzāk, kontaminantus, kolonizējošos un invazīvos celmus. Atsevišķos pētījumos konstatēts, ka nepatogēnajiem celmiem atšķirībā no patogēnajiem nav ica gēnu (4).

Tomēr ne vienmēr rezultāti ir liecinājuši par gēna klātbūtnes specifiskumu un klīnisko nozīmīgumu. Tā Vandercasteel et al. pētījumā parādīts, ka visaugstākā ica gēna un biofilmas marķiera proteīna aap prevalence ir kolonizējošos izolātos, lai gan divās trešdaļās ādas izolātu arī sastopams viens no šiem gēniem (16).

Līdzīgi rezultāti iegūti, salīdzinot meningīta ierosinātājus *S. epidermidis* ar kontaminantiem. Ica un aap gēnu klātbūtne konstatēta abu grupu izolātos (15).

Tātad jautājums par KONS patogenitāti nav atrisināts. Ņemot vērā tā klīnisko nozīmīgumu, darbs jāturpina, izmantojot gan fenotipiskus, gan genotipiskus kritērijus izolēto stafilokoku celmu raksturošanai.

Literatūra

1. Donlan R. M. (2001) Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Healthcare Epidemiology*, 33, 1387–1389.
2. Finch R. G. (1997) Coagulase negative staphylococci. In: Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Edited by A. M. Emmerson. John Wiley, England, 132–142.
3. Fitzpatrick F., Humphreys H., O'Gase J. P. (2005) The genetics of staphylococcal biofilm formation. *J. Clin. Microbiol. Inf. Dis.*, 11, 967–973.
4. Galdbart J. O., Allignet J., Tung H. S., Ryden C., El Soeh N. (2000) Screening for *Staphylococcus epidermidis* markers discriminating between skin flora strains and those responsible for infections of joint prostheses. *J. Infect. Dis.* 351–355.
5. Kong K. F., Vuong C., Otto M. (2006) Staphylococcus quorum sensing in biofilm formation and infection. *Int. J. Med. Microbiol.*, 296, 133–139.
6. Lourdes M., Sinzato Y. K., Silveira L. (2004) Comparison of methods for the identification of coagulase-negative staphylococci. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 99(8), 855–860.
7. Lourdes Ribeiro M., Suppo de Souza Rigolo L., Lopes C. A. (2006) Study of virulence factors in coagulase-negative staphylococci isolated from newborns. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 101(6), 661–668.
8. Mack D., Fisher W., Krokotsch A., Leopold K., Hartmann R., Egge H., Laufs R. (1996) The intracellular adhesin involved in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* is a linear beta-1,6 linked glucosamino-glycan: purification and structural analysis. *J. Bacteriol.*, 178, 175–183.
9. Mack D., Rohde H., Harris L. G., Davies A. P., Horstkotte M. A., Knobloch J. K. (2006) Biofilm formation in medical device-related infection. *Int. J. Artif. Organs*, 29, 343–359.
10. Mack D., Sabottne A., Dobinsky S., Rohde H., Horstkotte M. A., Knobloch J. K. (2002) Differential expression of methicillin resistance by different biofilm-negative *Staphylococcus epidermidis* transposon mutant classes. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 46, 1, 178–183.
11. Rohde H., Burdelski C., Bartscht K., Hussain M., Buck F., Horstkotte M. A. (2005) Induction of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation via proteolytic processing of the accumulation-associated protein by staphylococcal and host proteases. *Mol. Microbiol.*, 55, 1883–1895.
12. Rupp M. E., Fey P. D., Heilman C., Gotz F. (2001) Characterization of the importance of *Staphylococcus epidermidis* autolysin and polysaccharide intracellular adhesion in the pathogenesis of intravascular catheter-associated infection in a rat model. *J. Infect. Dis.*, 183, 1038–1042.
13. Sandoc J. A., Longshaw C. M. (2001) Ventriculo-peritoneal shunt infection caused by *Staphylococcus lugdunensis*. *Clin. Microbiol. Infect. J.*, 385–386.
14. Sloot N., Thomas M., Marre R., Gatermann S. (1992) Purification and characterisation of elastase from *Staphylococcus epidermidis*. *J. Med. Microbiol.*, 37, 3, 201–205.

15. Stevens N. T., Tharmabala M., Dillane T., Greene C. M., O Gara J. P. (2008) Biofilm and the role of the *ica* operon and *aap* in *Staphylococcus epidermidis* isolates causing neurosurgical meningitis. *J. Clin. Microb. Inf. Dis.*, 14, 716–730.
16. Vandecasteele S. J., Peetermans W. L., Merckx R. R., Rijnders B. J. A., van Eldere J. (2003) Reliability of the *ica*, *aap* and *atlE* genes in the discrimination between invasive, colonizing and contaminant *Staphylococcus epidermidis* isolates in the diagnosis of catheter-related infections. *J. Clin. Microb. Inf.*, 9, 114–119.
17. Vuong C., Dürr M., Carmody A. B., Peshel A., Klebanoff S. F., Otto M. (2004) Regulating expression of pathogen-associated molecular pattern molecules in *Staphylococcus epidermidis*: quorum sensing determines pro-inflammatory capacity and production of phenol soluble modulines. *Cell. Microbiol.*, 6, 8, 753–759.
18. Vuong C., Otto M. (2002) *Staphylococcus epidermidis* infection. *Microbes and Infection*, 4, 481–489.
19. Zilevica A., Vingre I. (2001) Update in staphylococcal infections. *LU Zinātniskie raksti*, IV (I), 151–159.
20. Yarwood J. M., Schlievert P. M. (2003) Quorum sensing in *Staphylococcus* infections. *J. Clin. Invest.*, 112, 1620–1625.
21. Xu L., Li H., Vuong C., Vadyvaloo V., Wang J., Yao Y., Otto M., Gao Q. (2006) Role of the luxS quorum-sensing system in biofilm formation and virulence of *Staphylococcus epidermidis*. *Infect. Immunol.*, 74(1), 488–496.

Summary

Coagulase-negative staphylococci have been identified as the etiological agents of various infections and are currently the microorganisms most frequently isolated in nosocomial infections.

Staphylococcus epidermidis is the major pathogen of the group of coagulase-negative staphylococci. It has been now generally accepted as a pathogen, although the virulence level in different strains varies, and many strains are basically opportunistic. The discrimination between non-pathogenic contaminants and virulent colonising and invasive strains of coagulase-negative staphylococci, particularly S. epidermidis, is of great clinical importance. Further investigations with the help of sensitive and reliable phenotypic and genotypic techniques are needed.

Keywords: *coagulase-negative staphylococci, virulence, pathogenicity.*

Uzturs un hronisku slimību profilakse *Food and Prophylaxis of Chronic Diseases*

Renāte Ligere,* Arvīds Grigāns, Pēteris Kučāns** un Ina Mežiņa****

*Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes ielā 1a, Rīga, LV-1001,
e-pasts: renlig@latnet.lv

**Latvijas Sarkanā Krusta medicīnas koledža, J. Asara ielā 5, Rīga, LV-1009

Uztura galvenā funkcija ir nodrošināt cilvēka organisma normālu vielmaiņu vecākiem cilvēkiem, novērst funkcionālās un aizkavēt organiskās pārmaiņas. Pasaules Veselības organizācijas prognozes liecina, ka saslimstība ar hroniskām neinfekciozām slimībām nākotnē palielināsies. Katra valsts hronisku slimību ārstēšanā iegulda lielas finanšu investīcijas, tāpēc tiek meklēti riska faktori, kas ietekmē hronisko slimību rašanos. Aptaukošanās ir gan hroniska slimība, gan daudzu hronisku slimību riska faktors, it īpaši saistībā ar metabolo sindromu, kura aizkavēšanā vai novēršanā uzturam ir ļoti liela loma.

Astslēgvārdi: uzturs, hroniskās slimības, riska faktori, aptaukošanās, metabolais sindroms.

Uzturzinātne ir medicīnas neatņemama sastāvdaļa. Uztura galvenā funkcija ir nodrošināt normālu vielmaiņu vecākiem cilvēkiem un aizkavēt vai samazināt funkcionālās un organiskās pārmaiņas slimības gadījumos (MC Carrison R., 1936). Medicīna plašākā nozīmē ir zinātne un māksla saglabāt veselību. Uzturzinātne ir saistīta ar visām medicīnas nozarēm, netradicionālo medicīnu un lielā mērā arī ar lauksaimniecību. Tās uzdevums ir ne tikai aizkavēt slimību rašanos vai ārstēt slimus cilvēkus, bet arī paaugstināt katra vesela cilvēka dzīves kvalitāti. Uzturs ir tikai instruments uzturzinātnes funkciju veikšanai.

Dažādu nozaru zinātniekus un cilvēka veselības pētniekus arvien vairāk interesē jautājumi, kas saistīti ar uztura ietekmi uz cilvēka veselību un veselības izmaiņām dažādu uzturlīdzekļu ietekmē. Tā, piemēram, ir pierādīts, ka rudzu maize, kuru Latvijā lieto ļoti daudz, sekmē svara samazināšanos, samazina sirds un asinsvadu slimību un cukura diabēta risku, aizkavē žultsakmeņu veidošanos, paaugstina audu jutību pret insulīnu, kā arī tai ir antigēna darbība (Djoussé, L. et al, 2007; Priebe, M. G. et al, 2008)

Uzturzinātne gadu gaitā

Aizvēsturiskos laikos ēšana tika uzskatīta par sakrālu. Ēdiena gatavošana bija reliģiska darbība, kura laika gaitā ieguvusi īpaša rituāla nozīmi (iespējams, augstas klases restorānos notiekošais ir kaut kas līdzīgs). Pirms maltītes bija jānožēlo grēki, tikai tad varēja sākt ēst. Bija zināms, ka uzturs dod spēku, nodrošina veselību un pasargā no slimībām. Ēģiptieši domāja, ka pārtika ir visu slimību avots. Turklāt pastāvēja dažādi diētu ieteikumi slimību ārstēšanai, piemēram, vistas akumu ārstēja ar vērša aknām un svaigi spiestu augļu sulu. Savukārt Senajā Grieķijā uzskatīja, ka

trūcīga un ierobežojosa diēta vienmēr ir bīstama, ka tie cilvēki, kuri ir dabīgi adipozi, mirst agrāk nekā tievie.

Pēc renesanses perioda sāka attīstīties zinātne un medicīnas zinātniskie pamati. Franču zinātnieks Lavuazjē (Lavoisier, 1743–1794) tiek uzskatīts par modernās uzturzinātnes pamatlicēju. Tikai 19. gadsimtā parādās pavārgrāmatas, tiek pētīti vitamīni. 20. gadsimta pētījumi kļūst mērķtiecīgāki, tiek vērtēts gremošanas un absorbcijas process cilvēka organismā, pamatvielmaiņa, uztura sastāvs, izstrādātas diētas rekomendācijas bērniem un pieaugušajiem, kā arī nosaukta jauna profesija – dietologs. 21. gadsimtā uzturzinātne pamazām komercializējas (funkcionālā pārtika, ilgas dzīves diēta).

Hroniskās slimības

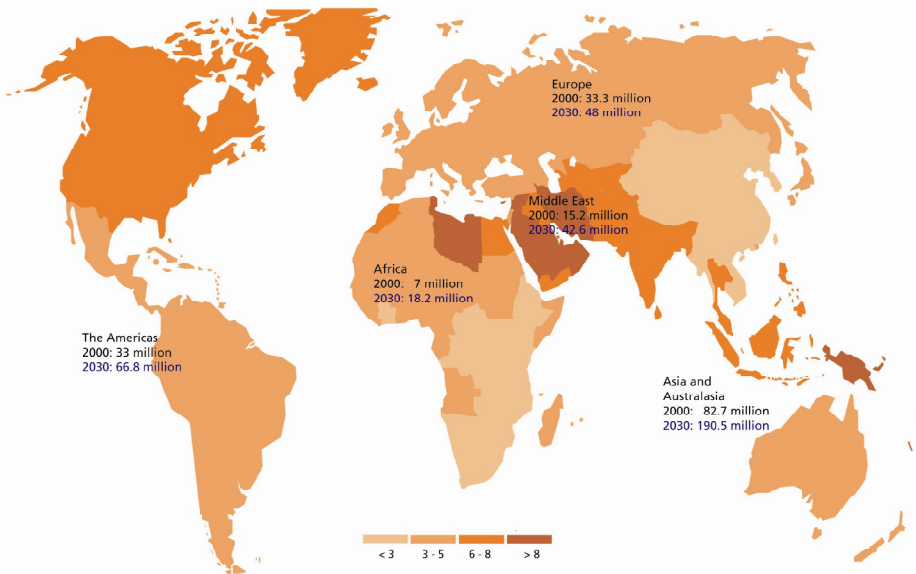
Sirds un asinsvadu slimības, cukura diabēts

Vēsturiski infekcijas un parazitārās slimības bija galvenais nāves iemesls Āzijā un ekonomiski mazattīstītajās valstīs. Pēdējo gadu laikā saslimstība un mirstība ar neinfekciozām slimībām jeb hroniskām slimībām, piemēram, sirds un asinsvadu slimībām, vēzi, cukura diabētu, ir strauji palielinājusies. Aprēķināts, ka 2005. gadā hroniskās slimības kā nāves iemesls Āzijā un Klusā okeāna reģionā bija 64% gadījumu. Saslimstība ar hroniskām slimībām gadu no gada palielinās. Āzijas reģionā un ekonomiski augsti attīstītajās valstīs hroniskās slimības kā nāves cēlonis ir novērojamas 81% gadījumu, 76% – ekonomiski vidēji attīstītās valstīs un 50% – ekonomiski vāji attīstītās valstīs (ESCAP, 2007). Interesanti atzīmēt, ka Indijā un Ķīnā, kuras netiek uzskatītas par ekonomiski attīstītām valstīm, pacientu skaits ar sirds un asinsvadu slimībām strauji palielinās un ir lielāks nekā visās ekonomiski attīstītajās valstīs kopā (Geneva, 2002). Pasaules Veselības organizācijas prognozes liecina, ka visā pasaulē nākotnē strauji palielināsies mirstība ar hroniskām slimībām – no 46 (2001. gads) līdz 57% (2020. gadā) (WHO, 2002).

Hronisko slimību incidence un prevalence ir novērojama kā indivīdiem, tā atsevišķām ģimenēm un pat nācijām. Ģenētikas un molekulārās bioloģijas sasniegumi ļāvuši atklāt, ka hronisku slimību gadījumos – koronārā sirds slimība, hipertensija, cukura diabēts, aptaukošanās, osteoporoze, alkoholisms un vēzis – ir ģenētiski determinētas. Ģenētiskie faktori nosaka organisma uzņēmību pret slimībām. Konstatēts, ka ģenētiskās pārmaiņas ietekmē organisma atbildi uz saņemto uzturu, mainās gēnu ekspresija (Simopoulos, A. P., 1999).

Spilgtākais piemērs šādam apgalvojumam ir Austrālijas aborigēni. Viņi tūkstošiem gadu ir dzīvojuši izolēti un galvenokārt nodarbojušies ar medīšanu, ūdens un pārtikas iegūšanu. Tas viss bija saistīts ar aktīvu dzīvesveidu un lielu enerģijas patēriņu. Pēdējos gadu desmitos dzīvojot pilsētās, viņi biežāk slimo ar hroniskām deģeneratīvām kaitēm – sirds un asinsvadu slimībām, hipertensiju, 2. tipa cukura diabētu un nieru slimībām. Sirgstošie ir gados jauni cilvēki, kuri zaudējuši darbu un ir atkarīgi no veselības aprūpes speciālistiem. Viņiem ir nepilnīga izglītība, slikti sadzīves apstākļi, nepietiekams uzturs. Dzīvojot bez izpratnes par veselību un tās riska faktoriem, aborigēni pastiprināti smēķē un lieto alkoholu (Gracey, M. S., 2007).

Ekonomiski attīstītajās valstīs 2020. gadā būšot šādas hroniskās slimības, kas izraisīs nāvi: išēmiskā sirds slimība (71% gadījumu) un insults (75% gadījumu), savukārt 70% gadījumu nāves iemesls būs cukura diabēts (WHO, 1987; 2003; Aboderin, D. et al, 2005). Arvien jaunāki cilvēki saslimst ar cukura diabētu. Indijā un Ķīnā ar šo slimību sirgstošo cilvēku skaits ir vislielākais pasaulē (1. attēls).



1. attēls. Dažādu pasaules valstu iedzīvotāju saslimstība ar cukura diabētu vecumā no 35 līdz 64 gadiem

Figure 1. Morbidity of diabetes mellitus in 35–64-year olds in different countries of the world

Šādi dati ir iegūti valstīs, kuru ekonomika ir vidēji vai pat vāji attīstīta un kur cilvēku vecums nepārsniedz 70 gadu. Pasaules Veselības organizācija (PVO) ir pieņēmusi lēmumu darīt visu, lai turpmāk katru gadu samazinātu nāves gadījumu skaitu, kuru cēlonis ir hroniskās slimības (WHO, 2005, Abegunde Dele, O. et al, 2007), kas prasīs ļoti lielus ekonomiskos ieguldījumus (Suhrecke, M. et al, 2006).

Pasaules Veselības organizācija prognozē, ka 2015. gadā hroniskas slimības – liekais svars un aptaukošanās būs 2,3 miljoniem cilvēku un vairāk nekā 700 miljoni no tiem slimos ar aptaukošanos. Aptaukošanās ir salīdzinoši jauna veselības problēma, ne vecāka par 50 gadiem. Turklāt interesants ir fakts, ka aptaukošanās ir kļuvusi par nopietnu veselības problēmu daudzās Latīņamerikas un daļā Āfrikas valstu, kurās nereti ir vērojama liela nabadzība (Murray, C. I. L., Lopez, H. D., 1996). Bads un nepietiekams uzturs ir viens no aptaukošanās riska faktoriem, jo saistīts ar bērna attīstības traucējumiem, dzelzs deficīta anēmiju, A vitamīna un joda trūkumu.

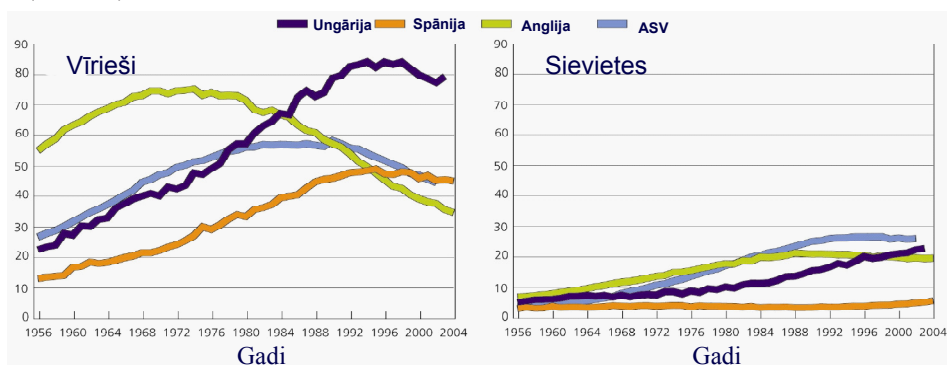
Mazs bērna svars piedzimstot var būt ar uzturu saistītu hronisku slimību – aptaukošanās riska faktors (Barker, D. J. P. et al, 2000; WHO, 2002). Tātad ne tikai ar taukiem bagāts uzturs, bet arī nepilnvērtīgs uzturs un pat bads var būt hronisku slimību cēlonis. Tāpēc Eiropas reģiona speciālisti uzsver: lai samazinātu hronisko

slimību risku, nākotnē īpaša vērība jāveltī sievietes uzturam grūtniecības laikā un pilnvērtīgam uzturam bērna pirmajos dzīves gados. Tas katrā ziņā nodrošinās labu veselību bērna turpmākajā dzīves laikā. Īpaši tiek uzsvērta zīdaiņu barošana ar krūti vismaz līdz sešu mēnešu vecumam (WHO Europe Regional Committee, 2007).

Aptaukošanās problēmas pētījumiem Amerikas Savienotajās Valstīs (ASV) pievērs ļoti lielu uzmanību, jo bērni, kas jaunāki par pieciem gadiem, ASV ir aptaukojušies 7–12% gadījumu un vienai piektai daļai jauniešu un pieaugušajiem liekais svars un aptaukošanās novērojama pat līdz 60% gadījumu (Pan American Health Organization, Washington, 2008, September).

Vēzis

Mirstība ar plaušu vēzi ir viena no visaugstākajām pasaulē, it īpaši vīriešiem (2. attēls).

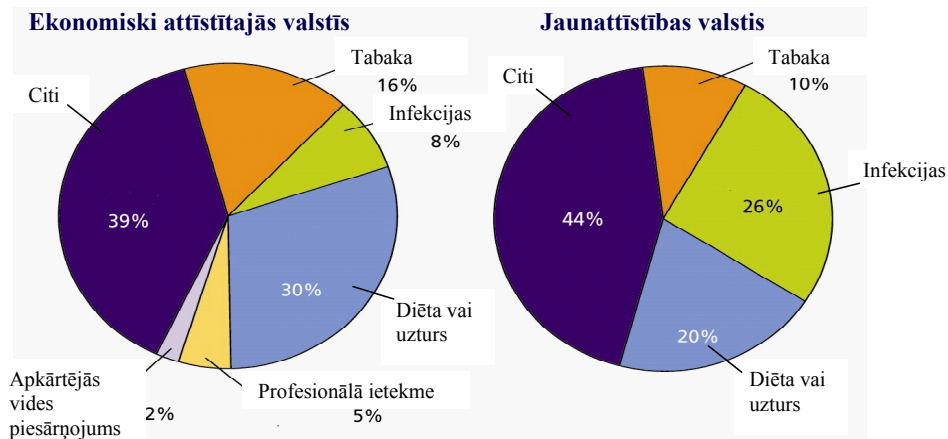


2. attēls. Vīriešu un sieviešu mirstība ar plaušu vēzi dažādās pasaules valstīs (Chiolero et al, 2008)

Figure 2. Mortality from pulmonary cancer in men and women in different countries of the world (Chiolero et al, 2008)

Kā liecina onkoloģiskie pētījumi, saslimstība ar vēzi palielinās līdz ar vecumu, turklāt pastāv atšķirības starp ekonomiski attīstītajām valstīm un jaunattīstības valstīm. Tā ekonomiski attīstītajās valstīs primāri diagnosticēts vēzis novērojams 78% gadījumu 55 gadu vecumā un vecākiem cilvēkiem, bet jaunattīstības valstīs tas tiek diagnosticēts daudz jaunākiem cilvēkiem (Global Cancer Facts & Figures, 2007); (3. attēls).

Viens no lielākajiem vēža riska faktoriem, kā tas redzams attēlā, ir uzturs (diēta).



3 attēls. Vēža galvenie riska faktori ekonomiski attīstītājās valstīs (2007)

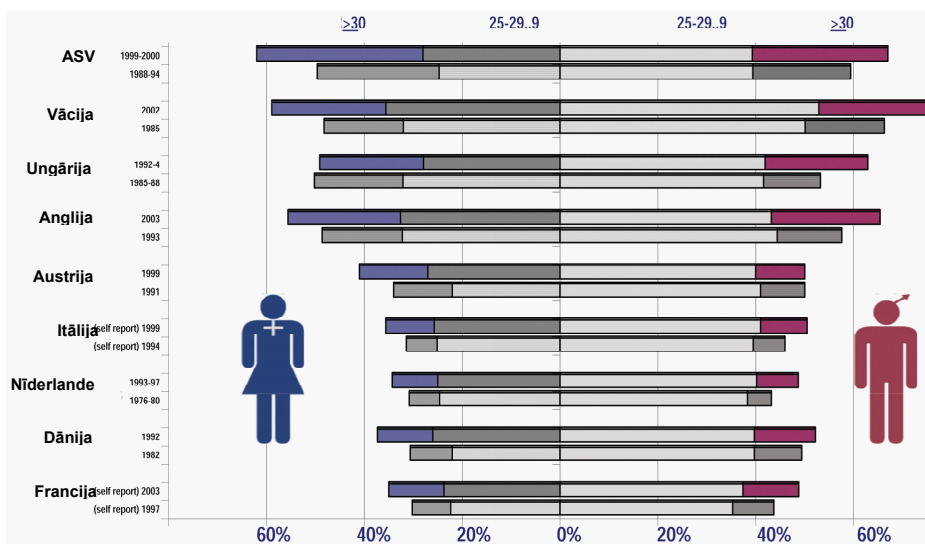
Figure 3. Major risk factors of cancer and level of economic development (Global Cancer Facts & Figures, 2007)

Ekonomiski attīstītājās valstīs minētajam faktoram ir būtiskāka nozīme (30% gadījumu) nekā jaunattīstības valstīs (20% gadījumu). Turpretī mirstība no dažādām infekcijas slimībām jaunattīstības valstīs ir joprojām lielāka (26% gadījumu) nekā ekonomiski attīstītājās valstīs (8%). Nākotnē saslimstība ar bronhu un plaušu vēzi, iespējams, varētu sasniegt 12%. Galvenais riska faktors kā vīriešiem (80% gadījumu), tā sievietēm (50% gadījumu) ir smēķēšana (3. attēls).

Lai rūpīgāk noskaidrotu vēža riska faktoros, ir analizētas gandrīz pusmiljons publikāciju, deviņas akadēmiskās institūcijas piedalījušās īpašu datu apstrādes metožu izstrādē (Miles, R., 2008). Eksperti konstatēja (2007), ka pastāv cieša sakarība starp uzturu un fizisko aktivitāti un risku saslimt ar vēzi, kā arī vēža saistība ar lieko svaru un aptaukošanos. Zinātniskās analīzes dati arī parādīja, ka nav noteiktu ķermeņa masas indeksa (ĶMI) rādītāju, kuri varētu sekmēt saslimšanu ar vēzi, tomēr tika uzsvērts, ka starp aptaukošanos un vēža risku pastāv saistība, tāpēc svarīgi būt fiziski aktīviem un saglabāt normālu ķermeņa svaru (Miles, R., 2008). Viena trešā daļa vēža saslimšanas gadījumu ir attiecināmi uz diētu (Doll, R., Peto, R., 1981).

Aptaukošanās kā hroniska slimība un riska faktors

Aptaukošanās ir 21.gadsimta nopietnākā veselības problēma visā pasaulē (4. attēls). Kā rāda statistikas dati un kā redzams 6. attēlā, visvairāk cilvēku ar lieko svaru un aptaukošanos ir ASV, Vācijā un Anglijā, bet vismazāk Francijā. Tas ir tā saucamais Francijas fenomens, ko skaidro galvenokārt ar pareizu uzturu, bagātu ar augļiem un dārzeņiem, ģenētiku, kā arī saprātīgu vīna lietošanu maltītes laikā.



4. attēls. Liekais svars un aptaukošanās dažādās pasaules valstīs (PVO, 2005)

Figure 4. Overweight and obesity in different countries of the world (WHO, 2005)

PVO dati liecina, ka visvairāk cilvēku ar aptaukošanos un lieko svaru rodami Klusā okeāna valstīs, kurās pat 94,5% iedzīvotāju ir liekais svārs un aptaukošanās (1. tabula).

1. tabula

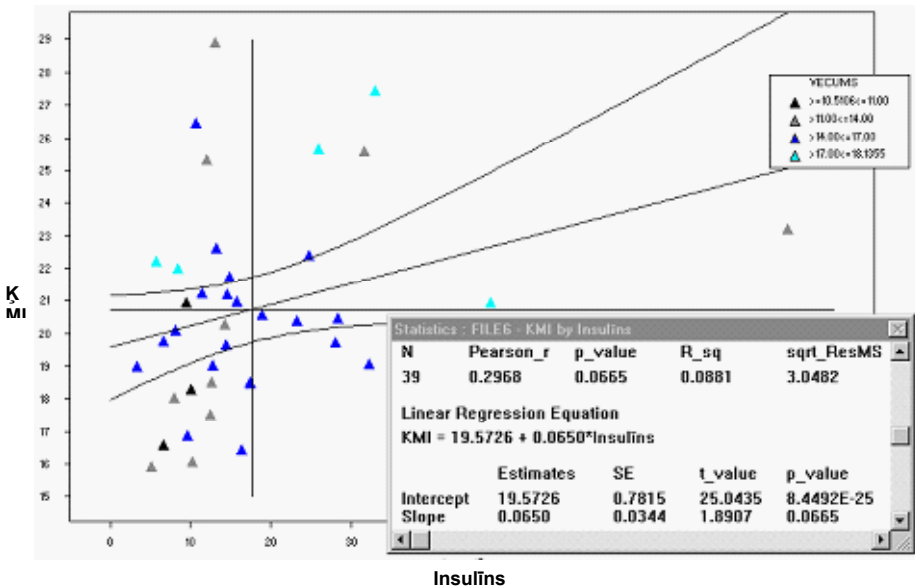
10 "smagākās valstīs" pasaulē (PVO, 2005)
10 "heaviest countries" in the world (WHO, 2005)

Nr. p. k.	Valsts	Liekais svārs un aptaukošanās (%)
1	Nauru	94,5
2	Mikronēzija	91,1
3	Kuka salas	90,9
4	Tonga	90,8
5	Niue	81,7
6	Samoa	80,4
7	Palau	78,4
8	Kuveita	74,2
9	ASV	74,1
10	Kiribati	73,6

Arī šajā attēlā redzams, ka ASV iedzīvotājiem ir palielināts svars un novērojama aptaukošanās pat līdz 74% gadījumu.

Aptaukošanās ir hroniska slimība ar daudzām blakusslimībām, kuru ārstēšana (gan bērniem, gan pieaugušajiem) un profilakse prasa no valsts ļoti lielas investīcijas (CDC, 2008). Tieši vidukļa apkārtmēra palielināšanās, nevis KMI lielums, ir ar aptaukošanos saistīts veselības risks (Janssen, I. et al, 2004).

Ir konstatēts, ka viscerālo tauku palielināšanās ir riska faktors cilvēkiem ar normālu svaru vai lieko svaru, turklāt pat vairāk nekā cilvēkiem ar vispārējo aptaukošanos (Stefan, N. et al, 2008). Komentējot šo pētījumu, tiek atzīmēts, ka tauku nogulsnešanās intraabdomināli un vidukļa apkārtmēra palielināšanās ir insulīna rezistences etioloģiskais faktors, kas rada glikozes tolerances un lipīdu vielmaiņas traucējumus un sekmē hipertensijas rašanos (metabolā sindroma raksturojošie rādītāji) (Landsberg, L., 2008). Insulīna koncentrācijas palielināšanās asinīs jauniešiem ir cieši saistīta ar ķermeņa masas palielināšanos (Ligere, R., Madrevica, I. et al, 2007); (5. attēls).



5. attēls. Insulīna koncentrācijas palielināšanās līdz ar KMI palielināšanos jauniešiem (Madrevica, I. et al, 2006)

Figure 5. Connection between augmentation of insulin and BMI in youth (Madrevica, I. et al, 2006)

C reaktīvā proteīna palielināšanās ir riska faktors iekaisuma slimībām, sirds un asinsvadu slimībām un cilvēkiem ar izteiktu aptaukošanos (Lakoski, S. G. et al, 2006).

Aptaukošanās un insulīna rezistences laboratoriskie marķieri:

1. Glikēmiskais indekss (ogļhidrātu absorbcijas ātrums gremošanas sistēmā)
2. CRO (C reaktīvais olbaltums) – iekaisuma marķieris (20mg/L/ 50 mg/L!!!)

3. Adiponektīns – CD un MI riska faktors (viscerālā aptaukošanās)
4. Apolipoproteīns B (apo B) (ne ABLh)
5. Insulīna koncentrācija asinīs (īpaši bērniem)
6. Proinsulīna koncentrācija asinīs (pieaugušajiem)
7. Pēcēšanas hiperglikēmija

Aptaukošanās komplikācijas, t. i., metabolās, deģeneratīvās un neoplastiskās, veicina aptaukošanos. Daudzi medikamenti, kurus lieto cukura diabēta ārstēšanai, palielina svaru, rada sāpes locītavās, ierobežo fizisko aktivitāti, kā dēļ samazinās enerģijas patēriņš, rodas miega *apnoea*, kas savukārt sekmē svara palielināšanos un rada pastiprinātu ēstgribu. Tas viss sekmē svara palielināšanos.

Līdzīgi kā pieaugušajiem, arī bērniem aptaukošanās paaugstina risku saslimt ar hroniskām slimībām. Aptaukošanās (KMI ≥ 95 procentlēm) un liekā svara problēma jauniešiem pēdējo gadu laikā ir pieaugusi trīskārtīgi (Ogden, C. L. et al, 2006).

Hroniskās slimības, līdzīgi kā bērnu un jauniešu aptaukošanās, hipertensija, dislipidēmija un metabolais sindroms (MS) kļūst par kritisku veselības un zinātnisko pētījumu prioritāti, kurus vieno viens patogēnētiskais mehānisms, kas saistīts ar insulīna rezistenci (Huang, T. T. et al, 2007; Reaven, G. M., 1988).

Aptaukošanās biežāk ir novērojama sievietēm, kurām cukura diabēts parādās grūtniecības laikā, kas paaugstina perinatālu morbiditāti un mortalitāti. Savukārt aptaukošanās un cukura diabēts mātei ir drauds bērnam saslimt ar cukura diabētu pusaudžu vecumā. Ir klīniski novērojumi, kuri liecina, ka mazs bērna svars piedzimstot ir riska faktors saslimt ar cukura diabētu pieaugušo vecumā (Dabelea, D. et al, 1998).

Pētījumi par aptaukošanās biežumu Baltijas valstīs: Igaunijā un Lietuvā, kā arī Somijā liecina, ka tā ir biežāk novērojama cilvēkiem, kas vecāki par 50 gadiem, turklāt biežāk mazizglītotām sievietēm visās novērotajās valstīs, savukārt vīriešiem tikai Somijā (Klumbiene, I. et al, 2004; Petkeviciene, J. et al, 2007).

Aptaukošanās ir cukura diabēta riska faktors. Savukārt cukura diabēts ir hroniska slimība, kura var būt priekšlaicīgas nāves iemesls komplikāciju dēļ. Viens no šādiem riska faktoriem ir sirds un asinsvadu slimības cukura diabēta pacientiem, kuras ir divas vai pat trīs reizes biežāk sastopams priekšlaicīgas nāves cēlonis gados jauniem cukura diabēta pacientiem (Hennis, A. et al, 2002). Cukura diabēta slimnieku ārstēšanai, kuriem ir sirds un asinsvadu slimību komplikācijas, ASV gadā tiek tērēti desmitiem biljoni dolāru.

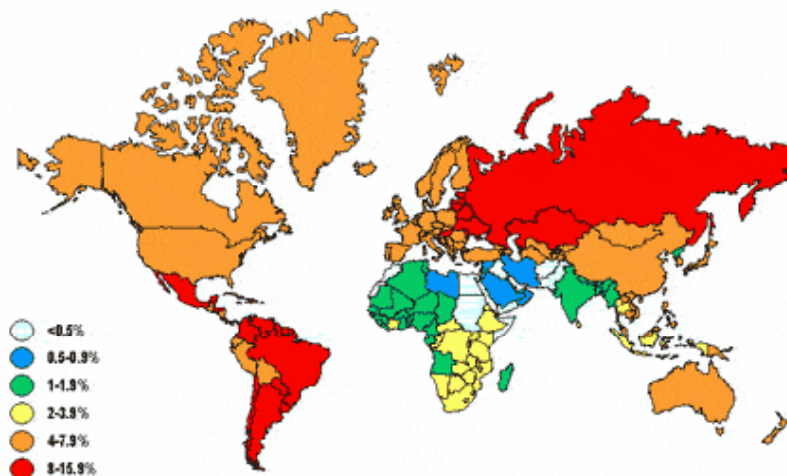
Hronisko slimību riska faktori

Visā pasaulē ļoti intensīvi tiek pētīti hronisko slimību riska faktori, kuri ir koriģējami un nākotnē var novērst vai aizkavēt hronisko slimību rašanos. Šie riska faktori tiek iedalīti trīs grupās. *Pirmā grupa* – dažādi paradumi (uzturs, smēķēšana, mazkustīgums, alkohola lietošana). *Otrā grupa* – bioloģiskie faktori (hipertensija, aptaukošanās, dislipidēmija, hiperinsulinēmija). *Trešā grupa* – sociālie faktori (sociālekonomiskie, kultūras un citi vides faktori). Kā piemērs tiek minēta Somija, kurā tika novērota strauja mirstības samazināšanās Ziemeļkarēlijā laikā no 1970.

līdz 1995. gadam (Puska Petal, 1998). Skaidrojums bija vienkāršs. Galvenie slimību riska faktori bija smēķēšana, paaugstināts arteriālais asinsspiediens un paaugstināta holesterīna koncentrācija asinīs. Uztura speciālisti rekomendēja īpašu uzturu, kurš samazina arteriālo asinsspiedienu un holesterīna koncentrāciju. Tajā pašā laikā zinātnieki pievērsa uzmanību faktam, ka Dienvidkorejā ir maz cilvēku, kuri slimotu ar hroniskām slimībām, lai gan tauku patēriņš ir liels un aptaukošanās ir novērojama daudziem cilvēkiem, līdzīgi kā sociāli un ekonomiski attīstītājās valstīs. To izskaidro ar faktu, ka Dienvidkorejā iedzīvotāji uzturā lieto ļoti daudz dārzeņu (Lee, M.-I. et al, 2002; Kim, S. W. et al, 2002).

Alkohols

Alkoholu cilvēki ir lietojuši tūkstošiem gadu, bet 20. gadsimta beigās un 21. gadsimta sākumā alkoholisms kļuvis par veselības un sociālo problēmu, kas saistīta ar personības degradāciju (Saarni, S. I. et al, 2008). Aprēķini liecina, ka pastiprināta alkohola lietošana veicina vairāk nekā 60 nopietnu hronisku slimību rašanos, tai skaitā vēža attīstību (6. attēls).



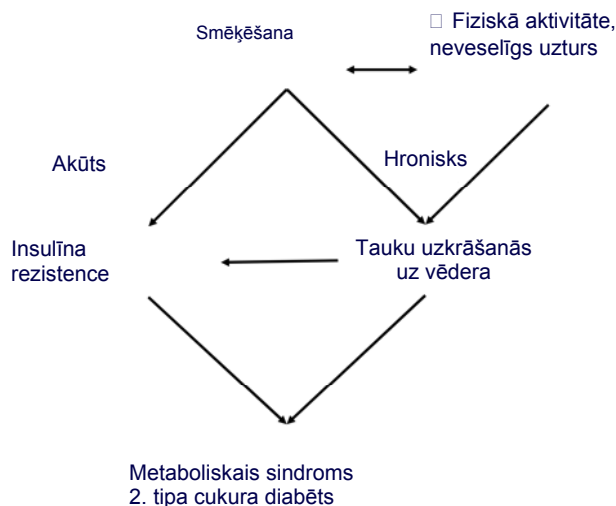
6. attēls. Hroniskās slimības un alkohola patēriņš dažādās pasaules valstīs

Figure 6. Chronic diseases and alcohol consumption in different countries of the world

Statistikas dati rāda, ka 30% gadījumu alkohola lietošana izraisa saslimšanu ar barības vada vēzi, aknu slimībām un epilepsiju, turklāt tā ir pašnāvību cēlonis. Visās novērotajās valstīs alkoholu visbiežāk lieto jauni cilvēki. Sievietes Baltijas valstīs, izņemot Latviju, un visi vīrieši Somijā, kas lieto alkoholu, ir ar augstu izglītības līmeni (Helasoja, V. et al, 2007). Tajā pašā laikā ir novērojumi, kuri liecina, ka vīns (150 ml – 13 g alkohola) trīs mēnešu laikā tiem, kuri slimo ar 2. tipa cukura diabētu un iepriekš nav bijuši alkoholatkarīgi, samazina glikozes koncentrāciju asinīs tukšā dūšā, bet ne pēcešanas hiperglikēmiju, visiem samazinās vidukļa apkārtmērs, ZBL holesterīns un HbA1C līmenis asinīs (Shai, J. et al, 2007).

Smēķēšana

Smēķēšana un aptaukošanās ir galvenie saslimstības un mirstības riski pasaulē (Haslam, D. W. et al, 2005). Dzīves ilgums smēķētājiem, kuri turklāt sirgst ar aptaukošanos, ir par 13 gadiem īsāks nekā smēķētājiem ar normālu svaru. Saistība starp smēķēšanu un aptaukošanos nav pilnībā izpētīta. Ir pierādīts, ka smēķēšana var tieši palielināt insulīna rezistenci. Smēķētājiem palielinās insulīna atbilde orālai glikozei, palielinās arī triglicerīdu (Tg) koncentrācija, ļoti zema blīvuma lipoproteīnu (LZBL) holesterīna koncentrācija, kā arī glikozes koncentrācija asinīs, bet augsta blīvuma lipoproteīnu (ABL) holesterīna koncentrācija samazinās. Vidukļa apkārtmērs paliek nemainīgs (7. attēls).



7.attēls. Sakarība starp smēķēšanu, insulīna rezistenci (In), viscerālo tauku uzkrāšanos, metabolo sindromu un 2. tipa cukura diabētu (CD) (Chiolero, A. et al, 2008)

Figure 7. Connection of smoking, insulin resistance, visceral fat accumulation, metabolic syndrome, and type 2 diabetes (Chiolero, A. et al, 2008)

Apetīte un gremošanas sistēmas loma vielmaiņas procesu regulācijā

Apetīte ir arī viens no faktoriem, kas ietekmē vielmaiņu. Hipotalāms ir galvenais ēstgribas regulētājs cilvēka organismā ar īpašu peptīdu starpniecību centrālajā nervu sistēmā. Tāpēc tiek meklēti dažādi apetītes regulācijas farmakoloģiskie līdzekļi (Simpson et al, 2008). Ir pierādīts, ka hipotalāma kannabinoīdi rada barības uzņemšanu, bet to receptoru bloķēšana sekmē svara samazināšanos (Cota, D. et al, 2007). Hipotalāma apetītes kontrole ir kompleksa, kas uztver signālus ne tikai hipotalāmā, bet arī sekmē perifēro signālu aktivāciju ar smadzeņu stumbra starpniecību (Simpson, K. A. et al, 2008). Taukaudi un gremošanas sistēma piedalās vielmaiņas regulēšanā. Adipozie audi secernē adipokinīnus, un leptīns, adiponektīns un rezistīns regulē uztura uzņemšanu un enerģijas patēriņu. Gremošanas sistēmas signāli regulē barības uzņemšanu, sagremošanu un absorbciju. Šajā procesā piedalās aknas, aizkuņģa dziedzeris, zarnas, zarnu nervu sistēma un zarnu hormoni.

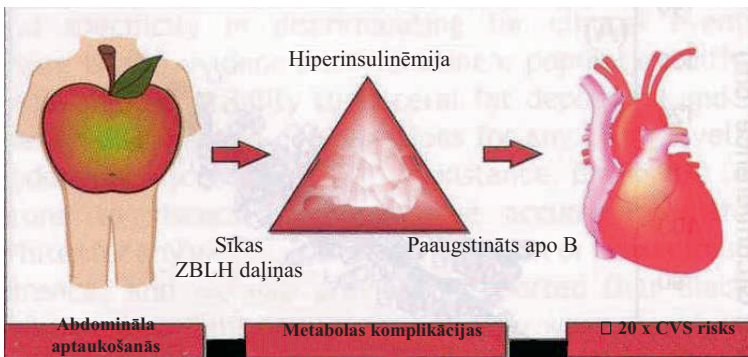
Ķermeņa svara regulācijā liela loma ir 22 endokrīniem mesendžeriem, kuri dažādā veidā piedalās vielmaiņas un apetītes regulācijā, stimulē insulīna sekrēciju, sekmē sāta sajūtas rašanos, samazina leptīna koncentrāciju pieaugušajiem ar lieko svaru un aptaukošanos, tāpēc arvien plašāk tiek sintezēti jauni funkcionāli analogi peptīdi, piemēram, *exenatide* (Byetta, Eli Lilly), kurš regulē glikozes vielmaiņu un arī svaru (Cummings, D. E. et al, 2002; Wynne, K. et al, 2008). Gremošanas sistēmas hormoni, piemēram, holecistokinīns, glukagonam līdzīgs peptīds-1, oksintomodulīns, grelīns, peptīds YY un aizkuņģa dziedzera polipeptīds, piedalās ēstgribas regulācijā un vielmaiņas procesos.

Leptīns un grelīns, interleikīns 1 un 6, neuropeptīds oreksīns regulē ķermeņa svaru, nodrošinot sakaru starp perifēriem orgāniem un centrālo nervu sistēmu (Lopez, M. et al, 2007). Glukagonam līdzīgais peptīds-1 ir inkretorais hormons, kuru secernē entero-endokrīnās šūnas kuņģa gļotādā un kurš labvēlīgi ietekmē glikozes homeostāzi, stimulē insulīna sekrēciju un kavē glukagona sekrēciju, samazina ēstgribu un barības uzņemšanu (Lerche, S. et al, 2008).

Pēcēšanas dismetabolisms ir iekaisumu un aterosklerozes cēlonis. Uzturs ar zemu glikēmisko indeksu – rieksti, etiķis, zivis un uzņemto kaloriju ierobežošana samazina pēcēšanas hiperglikēmiju.

Metabolois sindroms un hroniskās slimības

Metabolois sindroms jeb MS koncepcija vieno trīs biežāk novērojamas hroniskās slimības – sirds slimības, cukura diabētu un aptaukošanos, kuru etioloģiskie faktori un patoģenētiskais mehānisms ir līdzīgi, proti, audu rezistence pret insulīnu (8. attēls).

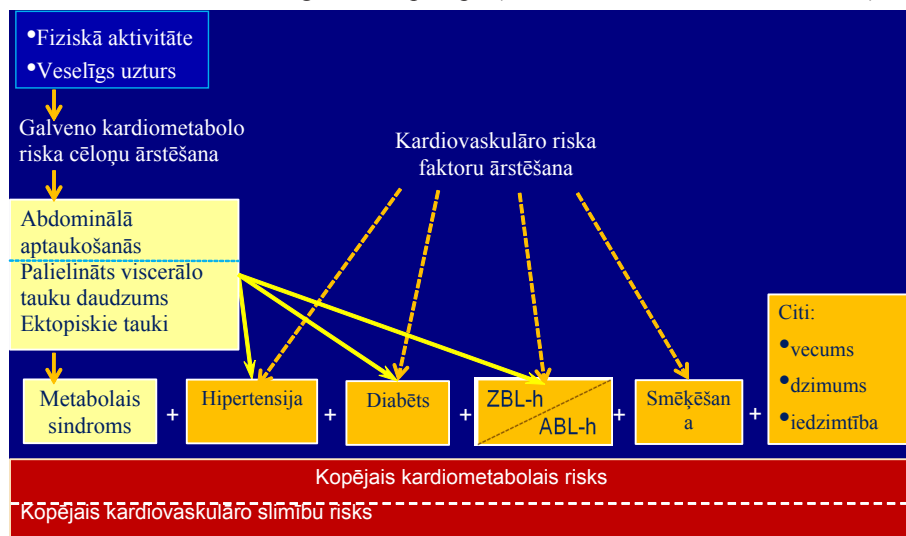


8. attēls. Cukura diabēta un aptaukošanās saistība ar insulīna rezistenci un sirds un asinsvadu slimībām (Despers, J.-P. et al, 2008)

Figure 8. Connection of diabetes mellitus and obesity with diseases of the cardiovascular system and insulin resistance (Despers, J.-P. et al, 2008)

MS koncepcija pastāv vismaz 80 gadu. Starptautiskajā kongresā Berlīnē 2005. gadā, kas tika veltīts jautājumiem par prediabētu un metabolo sindromu, tika ziņots, ka pasaulē ir 314 miljonu cilvēku ar glikozes tolerances traucējumiem un 2025. gadā šis skaitlis var palielināties līdz 500 miljoniem cilvēku. It īpaši šis jautājums ir aktuāls Indijā un Ķīnā. Cilvēkiem, kuriem ir glikozes tolerances traucējumi un izmainīta

glikozes tolerance tukšā dūšā, ir augsta cukura diabēta riska pakāpe. Pievienojoties vēl citiem riska faktoriem (smēķēšana, centrālā aptaukošanās, ģimenes anamnēze, paaugstināts ZBL holesterīns), rodas slimnieku grupa, kuri var saslimt ar prediabētu (9. attēls). Prediabēts un metabolois sindroms savukārt ir cukura diabēta un kardiovaskulāro slimību augsta riska pakāpe (Barter, P., 2005; Zimmet, P., 2007).



9. attēls. Individuālie kardiovaskulāro slimību riska faktori saistībā ar metabolo sindromu
Figure 9. Connection of individual cardiovascular risk factors with the metabolic syndrome

Nav skaidri definēti metabolo sindroma kritēriji bērniem (Must, A. et al, 1997), bet parasti to definē kā ≥ 3 no šādiem rādītājiem: $\text{KMI} > 97$ percentīlēm, triglicerīdi > 95 percentīlēm, sistoliskais asinsspiediens 95 percentīlēm, augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns < 5 percentīlēm, samazināta glikozes tolerance. ASV bērniem 12 gadu vecumā metabolois sindroms novērojams 39% gadījumā, kad konstatēts liekais svars, un 50% aptaukošanās gadījumā. Metabolois sindroms biežāk novērojams bērniem ar aptaukošanās problēmu, kas sekmē insulīna rezistenci, glikozes koncentrācijas un arteriālā asinsspiediena palielināšanos, kā arī augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīna (ABLh) samazināšanos (Weiss, R. et al, 2004).

Kā tas redzams 9. attēlā, kardiovaskulāro risku lielākoties palielina abdominālā aptaukošanās, kura izraisa galvenās metabolo komplikācijas saistībā ar hiperinsulinēmiju un holesterīna vielmaiņas traucējumiem.

Pētījumi par vidukļa apkārtmēra palielināšanos kā koronārās slimības risku turpinās, un tomēr ir secināts, ka abdominālā aptaukošanās ir pastāvīgākais un noteicošais koronāro sirds slimnieku riska faktors (Canoy, D. et al, 2007). Kaut gan aptaukošanās loma sirds slimību un 2. tipa cukura diabēta attīstībā ir liela, tomēr netiek noliegta arī ģenētiska sakarība starp šīm slimībām (Comuzzie et al, 2007).

Metabolois sindroms ir kā tilts starp aptaukošanos un insulīna rezistenci, kā arī multifaktoriāls cukura diabēta un sirds slimību riska faktors. Sindroms savu lomu

nav zaudējis, tā ir pat palielinājusies sabiedrības veselības novērtēšanā un slimību profilaksē, kā arī individuālā slimnieku aprūpē (Alberti, K., GMM, 2008).

Uzturs hronisko slimību profilaksē

Pārtikas industrija ir veicinājusi aptaukošanās “epidēmiju” – gāzēto un saldināto dzērienu pārpilnība, kalorijām bagāti mākslīgie saldinātāji, to patēriņa palielināšanās par 1000% (Vartanian, et al, 2007). Daudzas kompānijas, izprotot problēmas aktualitāti, ir devušas solījumu ražot mazāk neveselīgu pārtiku. Amerikas Dietologu asociācija ir izstrādājusi īpašu pārtikas un uztura programmu bērniem un jauniešiem, lai skolēnus izglītotu jautājumos par uzturu, aizkavētu vai samazinātu aptaukošanos un hroniskās slimības nākotnē (WHO, 2006). Pasaules Veselības organizācija ir izstrādājusi hronisko slimību – aptaukošanās, cukura diabēta, sirds un asinsvadu slimību, vēža, zobu slimību un osteoporozes uztura rekomendācijas un profilakses stratēģisko plānu (WHO, 2003). Arī visas ASV veselības organizācijas īpašu uzmanību pievērš cukura diabētam un aptaukošanās problēmai, uzsverot, ka nepieciešams ne tikai aizkavēt, bet arī kontrolēt hronisko slimnieku individuālo diētu, fizisko aktivitāti un veselību (Pan American Health organization, Washington, 2008). Īpaša uzmanība tiek pievērsta klīniskiem novērojumiem, kas saistīti ar ķermeņa svara samazināšanu un mazkaloriju uztura ietekmi uz dzīves ilgumu cilvēkiem ar hroniskām slimībām. Zinātnieki ir pārliecināti, ka ilgstoša kaloriju ierobežošana uzturā dos iespēju noteikt sakarības starp ķermeņa uzbūvi un endokrīno sistēmu, molekulāros mehānismus un gēnu ekspresiju. Savukārt tas ļaus pētīt novecošanos ar mērķi to aizkavēt (Redman, L. M., 2009).

Aptaukošanās “epidēmijas” profilakse

1. Samazināt ēdienu porciju lielumu un ierobežot kaloriju daudzumu (uzlabo mitohondriju funkciju –*Ravussin, E., 2007.*)
2. Nelietot lētus mākslīgi saldinātus bezalkoholiskos dzērienus (īpaši skolās)
3. Uzturā vairāk lietot treknas zivis (ω -3 ir sviestskābes avots; Tg↓)
4. Zivju eļļu lieliem un maziem, jo tā samazina pēkšņu koronāro slimību skaitu (atcerēsimies savu bērnību)
5. Vairāk uzturā lietot riekstus (mandeles, pistācijas, zemesriekstus) – tie samazina pēcēšanas hiperglikēmiju
6. Palielināt šķiedrvielu daudzumu uzturā – līdz 14 g uz 1000 cal
7. Pārtikas industrijas uzraudzīšana

Kalorijām bagāts, bet uzturvielām nabadzīgs uzturs ir raksturīgs ASV. Tas rada pēcēšanas glikozes un lipīdu vielmaiņas traucējumus, t. i., postprandiālu dismetabolismu, inducē tūlītēju oksidatīvu stresu, kas sekmē pēcēšanas glikozes un triglicerīdu koncentrācijas palielināšanos. Brīvo radikāļu palielināšanās sekmē asinsvadu endotēlija aterogēno iekaisumu, endotēlija disfunkciju, hiperkoagulāciju un simpātiskās nervu sistēmas aktivitātes paaugstināšanos. Šķiedrvielām, dārzeņiem, augļiem, pilngraudiem, pākšaugiem, graudiem un riekstiem bagāts uzturs var spēcīgi samazināt pēcēšanas glikozes un triglicerīdu koncentrāciju, kā arī iekaisuma procesus. Pēcēšanas dismetabolismu var samazināt liesa gaļa, etiķis, zivju eļļa,

olīveļļa, tēja, kanēlis, kaloriju ierobežošana un mazas līdz mērenas alkohola devas (O'Keefe, J. H. et al, 2008). Šī pretiekaisuma diēta tiek uzskatīta par primāru un sekundāru koronārās sirds slimības un cukura diabēta prevenciju.

Vēža profilakses vadlīnijas (Miles, R., 2008)

1. Saglabāt normālu ķermeņa svaru no 21 gada vecuma (KMI 21–23)
2. Veicināt fizisko aktivitāti kā ikdienas dzīves sastāvdaļu (ņipra un dzīvespriecīga iešana vismaz 30 min dienā)
3. Samazināt enerģētiski bagātas pārtikas lietošanu uzturā (125 kcal uz 100 g). Nelietot saldinātus dzērienus un daudz augļu sulas
4. Vairāk ēst maz pārstrādātus graudus un pākšaugus, cieti maz saturošus augļus un dārzeņus katrā maltītes reizē. Kopējā dienas deva 400 g
5. Ierobežot “sarkanās” (liellopu, cūkas, aitas un kazas) gaļas un dažādu to pārstrādes produktu lietošanu uzturā ~300 g nedēļā
6. Ierobežot alkoholisko dzērienu lietošanu uzturā – vīriešiem līdz diviem malkiem un sievietēm līdz vienam malkam (viens malks satur 10–15 g etanola) dienā
7. Ierobežot sāls lietošanu uzturā (līdz 5 g dienā)
8. Nelietot uztura bagātinātājus
9. Bērnus barot ar krūti vismaz līdz sešu mēnešu vecumam

Epidemioloģiskie pētījumi Grenlandē ap 1970. gadu liecināja, ka ω -3 taukskābēm ir labvēlīga ietekme uz sirds un asinsvadu sistēmu. Tika veikti daudzi lieli klīniski epidemioloģiski pētījumi, lai izzinātu taukskābju spēju aizsargāt asinsvadus. Tika atklāts, ka Japānas vīriešiem daudz retāk ir novērojamas sirds slimības nekā stiprā dzimuma pārstāvjiem citās valstīs, ko skaidro ar lielu zivju (lasis, makreles, tuncis) daudzuma patēriņu ikdienā. Turpretī Amerikā dzīvojošie japāņi ar sirds slimībām sirgst pat biežāk nekā amerikāņi, kas tieši pierāda šādu sakarību. Ja nav sirds un asinsvadu slimību, ω -3 taukskābes iesaka lietot 250–500 mg/dienā, savukārt slimniekam ar sirds un asinsvadu slimībām – pat līdz 1 g/dienā. Šo skābju vislabākais avots ir zivju eļļa. Turklāt lielāks efekts ir, ja kombinē zivju eļļu ar statīniem (Simopoulos, A. P. et al, 2009).

Eiropā kardiovaskulārās slimības ir biežākais nāves cēlonis gandrīz 42% gadījumu. Viens no iemesliem varētu būt samazināts augļu un dārzeņu saturs ikdienas uzturā. Pētot sakarības starp šo slimību biežumu, ir novērots, ka jaunās Eiropas Savienības valstīs (pēc 2004. gada) ir salīdzinoši vairāk jālieto augļi un dārzeņi, ņemot vērā šo valstu ekonomiskos, sociālos un kultūras aspektus (Pamerleau, I. et al, 2005).

2002. gadā Eiropas Parlaments un Padome pieņēma jaunu Sabiedrības veselības programmu (uzturs, fiziskā aktivitāte, aptaukošanās) 2003.–2008. gadam. Programmas prioritātes ir veselīgas pārtikas un uztura politika, lai samazinātu hroniskās un neinfekciozās slimības (European Communities Council, 2002).

Literatūra

1. Djoussé, L., Gaziano, J. M. Breakfast cereals and risk of heart failure in the physician's health study I. *Aroh. Intern. Med.* 2007; 167(19): 2080–2085.
2. Priebe, M. G., van Binsberger, I. I., de Vos, R., Vork, R. I. Whole grain food for prevention of type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2008; 23(1): CD 006061.
3. McCarrison, R. *Cantor Lectures Royal Society of Arts*, 1936.
4. ESCAP (Economic and Social Commission for Asia and the Pacific). *Statistical Yearbook for Asia and the Pacific 2007*.
5. Programming of chronic disease by impaired fetal nutrition: evidence and implications for policy and intervention strategies. Geneva, World Health Organization, 2002 (documents WHO/NHD/02.3 and WHO/NPH/02.1).
6. Simopoulou, A. P. *Evolutionary aspects of nutrition and health. Diet, exercise, genetics and chronic disease*. 1999; Copyright by S. Karger. Preface IX–XIV.
7. Gracey, M. S. *Nutrition-related disorders in indigenous Australians: how things have changed*. MIA, 2007; 186: 15–17.
8. Suhrcke, M., Nugent, R. A., Stuckler, D., Rocco, L. *Chronic disease and economic perspective*. London : The Oxford Health Alliance, 2006.
9. Abegecende Dele, O., Mathers. D., Adams, T., Ortegán, M., Strong, K. The burden and costs of chronic diseases in low-income and middle-income countries. *Lancet*. 2007; 370: 1929–1938.
10. BBS News, 2008, January 2.
11. WHO. Preventing chronic diseases: a vital investment. WHO global report Geneva : World Health Organization, 2005.
12. Aboderin, I. et al. *Life course perspectives on coronary heart disease, stroke and diabetes: key issues and implications for policy and research*. Geneva : World Health Organization, 2001 (document WHO/NMH/NPH/01.4).
13. The world health report 1998. Life in the 21 century: a vision for all. Geneva : World Health Organization, 1998.
14. Murray, C. J. L., Lopez, A. D. (eds.) *The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020*. Cambridge : Harvard School of Public Health on Behalf of the World Health Organization and the World Bank, 1996 (Global Burden of Disease and Injury Series, Vol. 1).
15. Barker, D. J. P. et al. Size at birth and resilience to effects of poor living conditions in adult life: longitudinal study. *British Medical Journal*. 2001; 323: 1273–1276.
16. Diet, physical activity and health. Geneva : World Health Organization, 2002 (documents A55/16 and A55/16 Corr. 1).
17. The world health report 2002: reducing risks, promoting healthy life. Geneva : World Health Organization, 2002.
18. WHO Europe, Regional Committee for Europe, fifty-seventh session, Belgrade, 2007.
19. Pan American Health Organization, World Health Organization, Washington, June 2008; September 2008.
20. Global Cancer Facts & Figures, 2007.

21. Miles, L. The new WCRF/AICR report – food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. *British Nutrition Foundation Bulletin*. 2008; 33, 26–32.
22. Doll, R., Peto, R. The courses of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *Journal of National Cancer Institute*. 1981; 66: 1191–1308.
23. Puska, P. et al. Changes in premature deaths in Finland: successful long-term prevention of cardiovascular diseases. *Bulletin of the World Health Organization*. 1998; 76: 419–425.
24. Lee, M.-J., Popkin, B. M., Kim, S. The unique aspects of the nutrition transition in South Korea: the retention of healthful elements in their traditional diet. *Public Health Nutrition*. 2002; 5: 197–203.
25. Kim, S. W., Moon, S. J., Popkin, B. M. The nutrition transition in South Korea. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2002; 71: 44–53.
26. Saarni, S. I., Joutsenniemi, K., Koskinen, S. et al. Alcohol consumption, abstaining, health utility, and quality of life – a general population survey in Finland. *Alcohol and Alcoholism*. 2008; 43(3): 376–386.
27. Helasoja, V., Lahelma, E., Prättälä, R., Petkeviciene, I., Pudule, I., Tekkel, M. *BMC Public Health*. 2007; 13, 7(147): 241.
28. Shai, I., Wainstein, I., Harman-Boehm, I., Raz, I., Fraser, D., Rudich, A., Stampfer, M. J. *Diabetes Care*. 2007; 30: 3011–3016.
29. Haslam, D. W., James, W. P. Obesity. *Lancet*. 2005; 366: 1197–1209.
30. CDC. Preventing obesity and chronic disease through good nutrition and physical activity, 2008.
31. Janssen, I., Katzmarzyk, P. T., Ross, R. Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Am. J. Clin. Nutrition*. 2004; 79: 379.
32. Stefan, N., Kantartzis K, Machann I, et al. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Arch. Intern. Med*. 2008; 168: 1609–1616.
33. Landsberg, L. Body fat distribution and cardiovascular risk. A tale of two sisters. *Arch. Intern. Med*. 2008; 168: 1607–1608.
34. Lakoski, S. G., Cushman, M., Criqui, M. et al. Gender and C-reactive protein: data from the multiethnic study of atherosclerosis (MESA) cohort. *Am. Heart J*. 2006; 152(3): 593–598.
35. Huang, T. T., Ball, G. D., Franks, P. W. Metabolic syndrome in youth: current issues and challenges. *Appl. Physiol. Nutr. Metab*. 2007; 32(1): 13–22.
36. Reaven, G. M. Banting lecture. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988; 37: 1595–1607.
37. Hennis, A., Wu, S. Y., Nemesure, B., Li, X., Leske, M. C. Barbados eye study group. Diabetes in a Caribbean population: epidemiological profile and implications. *Int. J. Epidemiol*. 2002; 31(1): 234–239.
38. Dabelea Disease, Hanson, R. I., Bennett, P. H., Roumain, I., Knowler, W. O., Pettitt, D. I. Increasing prevalence of type II diabetes in American Indian children. *Diabetologic*. 1998; 41: 904–910.
39. Petkeviciene, I., Klumbiene, I., Prättälä, R., Paalanen, L., Pudule, I., Kasmel, A. *Public Health Nutrition*. 2007; 10: 518–523.

40. Klumbiene, I., Petkeviciene, I., Helasoja, V., Prättälä, R., Kasmel, A. Sociodemographic and health behaviour factors associated with obesity in adult populations in Estonia, Finland and Lithuania. *Eur. J. Public. Health.* 2004 Dec.; 14(4): 390–394.
41. Simpson, K. A., Martin, N. M., Bloom, S. R. Hypothalamic regulation of appetite. *Medscape, Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 2008; 3(5): 577–592.
42. Cota Disease, Steiner, M.-A., Marsicano, G. et al. Requirement of Cannabionoid Receptor Type 1 for the Basal Modulation of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function. *Endocrinology.* 2008; 148(4): 1574–1581.
43. Cummings, D. E., Weigle, D. S., Frayo, R. S. et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss of gastric bypass surgery. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346: 1623–1630.
44. Wynne, T., Park, A. I., Small, C. I. et al. Subcutaneous oxyntomodulin reduces body weight in overweight and obese subjects: a double-blind, randomized controlled trial. *Diabetes.* 2005; 54: 2390–2395.
45. Barter, P. Management of the metabolic syndrome: the evidence base. Program and abstract of the 1st International Congress on “Prediabetes” and the Metabolic Syndrome; April 13–16, 2005; Berlin, Germany.
46. Zimmet, P. Z. The metabolic syndrome – mysteries and myths. 2nd International Congress on “Prediabetes” and the Metabolic Syndrome; April 25–28, 2007; Barcelona, Spain.
47. Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P. Z. Head to head. Should we dump the metabolic syndrome? *No BMI* 2008; 336–641.
48. Canoy Disease, Boekholdt, S. M., Warehans, N. et al. Body fat distribution and risk of coronary heart disease in men and women in the European Prospective investigation into cancer and nutrition in Norfolk Cohort. *Circulation.* 2007; 116: 2933–2943.
49. Comuzzie, A. G., Tejero, M. E., Funahashi, T. et al. The genes influencing adiponectin levels also influence risk factor for metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Human biology.* 2007; 79(2): 191–200.
50. Weiss, R., Dziura, I., Burgert, T. et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 2362–2374.
51. Vartanian, L. R., Schwartz, M. B., Brownell, K. D. Effects of soft drink consumption on nutrition and health: a systematic review and meta-analysis. *AM. J. Publ. Hlth.* 2007; 97: 667–675.
52. European Communities Council. Decision NO. 1786/2002EC of the European Parliament and of the Council of 23 September 2002, Adoption of a Programme of Community Action in the Field of Public Health (2003–2008). *Official journal of the European Communities* L271 09.10.2002, also available at <http://europa.eu.int/eurlex/pri/en/oj/-dat/2002/1-271/1-27120021009en00010011.pdf>
53. Pan American Health Organization, 48th Directing Council, September 2008.
54. Redman, L. M., Ravassin, E. Endocrine alterations in response to caloric restriction in humans. *Molecular and cellular endocrinology.* 2009; 299(1): 129–136.
55. O’Keefe, J. H., Gheewala, N. M., O’Keefe, J. O. Dietary strategies for improving post-prandial glucose, lipids, inflammation, and cardiovascular health. *Journal of the American College of Cardiology.* 2008; 51(3): 249–255.
56. Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acids: Biological Effects. *World Rev. Nutr. Dict.* Basel, Kargen. 2009; 99: 1–16.
57. Madrevica, I., Kriķis, J., Ligere, R. *Waist circumference and BMI as predictors of arterial hypertension in childhood and adolescence in Latvia.*

58. Ogden, C. L., Carroll, M. D., Curtin, L. R., McDowell, M. A., Tabak, C. J., Flegal, K. M. Prevalence of overweight 1999–2004. *JAMA*. 2006; 295: 1549–1555.
59. Lerche, S., Brock, B., Rungby, J. et al. Glucagon-like peptide-1 inhibits blood-brain glucose transfer in humans. *Diabetes*. 2008; 57(2): 325–331.
60. López, M., Tovar, S., Vázquez, M. I. et al. Peripheral tissue-brain interactions in the regulation of food intake. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2007; 66: 131–155.
61. Chiolero, A., Faeh, D., Paccaud, F., Cornuz, J. Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance. *American Journal of Clinical Nutrition*. April 2008; Vol. 87, No. 4, 801–809.
62. Simopoulos, A. P., Bazan, N. G. (eds): Omega-3 Fatty Acids, the Brain and Retina. *World Rev. Nutr. Diet*. Basel, Karger, 2009; Vol. 99, 1–16.
63. Pomerleau, J., Lock, K., McKee, M. The burden of cardiovascular disease and cancer attributable to low fruit and vegetable intake in the European Union: differences between old and new Member States. *Public Health Nutrition*. 9(5), 575–583.

Summary

The main function of food is to ensure normal metabolism in human body at different stages of life and to prevent its functional changes and retard its organic changes. The World Health Organization predicts that morbidity from non-infectious chronic diseases in the future will increase. Each country makes great financial investments in the treatment of chronic diseases. Risk factors are researched in order to see these diseases decreased. Obesity is a chronic disease and a risk factor of many chronic diseases, especially in relation to the metabolic syndrome, because food has a significant role in its retardation and prevention.

Keywords: *food, chronic diseases, risk factors, obesity, the metabolic syndrome.*

Clinical Differentiation between Myocardial Infarction and Angina in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus

Miokarda infarkta un stenokardijas klīniskās pazīmes

2. tipa cukura diabēta pacientiem

Poonam Kangloo², Renāte Ligere^{1, 2}

¹Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Kardioloģijas centrs,
Pilsõņu iela 13, Rīga, LV-1002

²Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte,
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: renlig@latnet.lv

Background: Cardiovascular diseases (CVD) is the major cause of morbidity and mortality in Latvia and is partly linked with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

Aim: Clinical evaluation of T2DM patients with CVD and clinical differentiation between myocardial infarction (MI) and angina in T2DM.

Subjects and methods: 109 T2DM patients (49 males, 60 females; mean age 67+/-10 years) from the Cardiology Department of Pauls Stradiņš Clinical University Hospital were studied. They exhibited angina ($n = 52$), MI ($n = 40$), and heart failure ($n = 17$). Prior to admission, 22% were on insulin therapy ($n = 24$), 40% were on oral hypoglycemics ($n = 44$), and 38% were newly diagnosed with T2DM after exhibiting CVD ($n = 41$). The main outcome measures were derived from medical histories, clinical and laboratory investigations.

Results: All T2DM patients had at least one CVD risk factor: obesity (97%), hypertension (90%), dyslipidemia (50%), elevated serum creatinine (54%), and decreased glomerular filtration rate (67%). Complications varied in both severity and duration of hyperglycemia ($p < 0.01$). Peripheral neuropathy was the most common complication (55%), affecting all patients with over 10 years of T2DM. Nephropathy was already present in newly diagnosed patients with T2DM. Logistic regression models found for small amount of high density lipoprotein (HDL), significantly increased risk of decline in renal function ($r = -0.266$, $p = 0.005$), and increased serum creatinine ($r = -0.403$, $p < 0.0005$). Males with MI had higher diastolic pressure (93 v/s 85 mmHg; $p = 0.045$), lower HDL levels (1.09 v/s 1.33 mmol/L; $p = 0.002$) and higher fibrinogen levels (5.06 v/s 4.50 g/L; $p = 0.014$) compared to those with angina. Females with MI were older (72 v/s 66 years; $p = 0.016$) than those with angina, but the latter had higher concentration of D-dimers (369 v/s 237 mkg/L; $p = 0.023$).

Conclusions: T2DM patients had multifactorial risk factors for CVD, among which were obesity, hypertension, elevated fasting blood glucose and serum creatinine, dyslipidemia, and poor renal function. Diastolic hypertension, low HDL levels, and high fibrinogen were associated with MI in males. Women over 70 years were more likely to suffer from MI. High concentrations of D-dimers were associated with angina in women under 70 years.

Keywords: type 2 diabetes, myocardial infarction, angina.

Abbreviations

ALAT – alanine aminotransferase	HbA1c – glycosylated (or glycated) hemoglobin
ANOVA – analysis of variances	HDL – high density lipoprotein
ASAT – aspartate aminotransferase	HF – heart failure
ATP – Adult Treatment Panel	HT – hypertension
BMI – Body Mass Index	IDF – International Diabetes Federation
BP – blood pressure	IFG – impaired fasting glucose
CAD – coronary artery disease	LDL – low density lipoprotein
CHD – coronary heart disease	MI – myocardial infarction
CKD – chronic kidney disease	PAI-1 – plasminogen activation inhibitor-1
CRP – C-reactive protein	RR – relative risk
CVD – cardiovascular disease	T2DM – type 2 diabetes mellitus
DM – diabetes mellitus	TG or Tg – triglycerides
ECG – electrocardiogram	TGF – transforming growth factor
ESRD – end-stage renal disease	VEGF – vascular endothelial growth factor
ESRF – end-stage renal failure	VLDL – very low density lipoprotein
EU – European Union	WC – waist circumference
FBG – fasting blood glucose	WHO – World Health Organization
GFR – glomerular filtration rate	

Introduction

Type 2 diabetes mellitus has become a world pandemic. It is spreading rapidly across the globe, affecting people irrespective of their age and race, and has turned out to be a major public health problem. According to the World Health Organization, it is suspected that around 200 million people are suffering from diabetes mellitus and this figure is expected to rise to 300 million by 2020 and even 500 million by 2030. The main concern about the patients with type 2 diabetes mellitus is that up to 50% of all patients are undiagnosed since they remain asymptomatic for many years. Therefore, detection of these patients is important for public health and everyday clinical practice to reduce the complications of diabetes mellitus.

Type 2 diabetes mellitus has been framed the king of metabolic disturbances and there is no doubt about it. Complications relating to all over the body, type 2 diabetes mellitus has a notorious reputation. Currently, we give type 2 diabetes mellitus an additional definition by suggesting it is a cardiovascular disease.

Cardiovascular disease is the major cause of mortality and morbidity in modern societies. Type 2 diabetes mellitus is one of the main cardiovascular risk factors, and around 80% are affected by coronary heart disease, stroke, and peripheral vascular disease, many prematurely. Each year, there are about 3.8 million deaths that are attributable to type 2 diabetes mellitus. The risks are magnified in individuals

who have other microvascular complication of diabetes mellitus, such as diabetic retinopathy and nephropathy.

Obesity, hypertension, and dyslipidemia increase risks of cardiovascular complications in these patients. Early detection of the cardiovascular risk factors, recognizing and managing the cardiovascular complications in type 2 diabetes mellitus patients, are now a high priority – emphasized by government bodies, professional institutions, and patient advocacy groups, because, if this epidemic is not halted or reversed, the impact on both the worldwide population and the healthcare system will be considerable.

Since type 2 diabetes mellitus is closely linked with cardiovascular disease and the latter is the leading cause of death in Latvia, the aim of this article is to draw attention to the size of this problem, especially with respect to the complications of diabetes mellitus.

Secondly, studies have generally suggested the association between myocardial infarction and angina in patients with type 2 diabetes mellitus. However, no studies have focused on why some patients are more vulnerable to myocardial infarction and the others to angina. We undertook a comparative study to examine the differences. Identification of such markers may reveal new approaches in the prevention of myocardial infarction and angina in patients with type 2 diabetes mellitus.

Subjects and Methods

109 T2DM patients with MI, angina, and HF from the Cardiology Department of Pauls Stradiņš Clinical University Hospital in Rīga, Latvia, were studied. The study population consisted of 49 males and 60 females. The average age of the study population was 67±10 years (ranging from 45 to 86 years).

Numerous diseases were recorded in T2DM patients in the above-mentioned department, including MI, angina, HF, arrhythmias, infective endocarditis, hypertensive crisis, pulmonary embolism, respiratory distress syndrome, and many more. However, for this study, only 3 groups of patients were investigated, based on their diagnosis on admission, as shown in Table 1. It was established that all the patients in the study were non-alcoholics and non smokers.

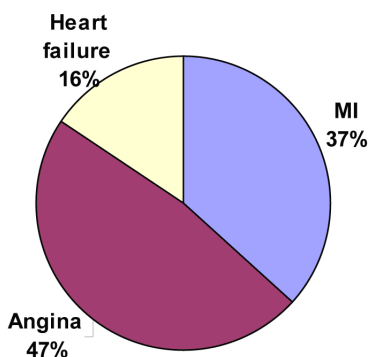
Table 1

Categorization of T2DM patients according to the cause of admission

2. *tipa cukura diabēta slimnieku sadalījums pēc diagnozēm uzņemšanas nodaļā*

Cause of admission	Males	Females	Total
Myocardial infarction (MI)	17	23	40
Angina	24	28	52
Heart failure (HF)	8	9	17
Total	49	60	109

Angina was the main cause of admission in the study population. Figure 1 illustrates the different causes of admission in T2DM patients.



*Fig. 1. Categorization of T2DM patients according to the cause of admission
1. attēls. Procentuālais 2. tipa cukura diabēta pacientu sadalījums pēc diagnozēm
uzņemšanas nodaļā*

Choice and Characteristics of Patients

Patients were selected randomly based on the availability of their medical records at the Department of Cardiology. Potential patients (diagnosed with T2DM) were identified according to the registry.

Patients who were likely to have a cardiovascular event due to T2DM were included in this study. These were T2DM patients with MI, angina, and HF.

T2DM patients with other CVD besides MI, angina, and heart failure were excluded. Other exclusions included T1DM, gestational diabetes, diabetes due to pancreatic diseases, and other forms of diabetes.

Interview and Clinical Examinations of the Patients

Prior to the clinical examinations, the patients' consent was obtained. Each patient was carefully explained about the study and possible access to his/her medical records. Following the consent, interviews of each patient and physical examinations were carried out. Full medical history of each patient and laboratory results were obtained from the patients' medical records. All the information was filled in the questionnaire.

Physical examination. Full general physical examination was conducted on each patient to confirm the diagnosis.

Weight, height, and BMI. Weight and height were measured in kilograms and centimeters, respectively, using standard patient weighing scale and height ruler provided in each department. BMI was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2). Those with BMI 25–29.9 kg/m^2 were categorized as overweight, while those with BMI $> 30 kg/m^2$ were categorized as obese according to the parameters published by WHO.

Waist circumference. WC was measured with a measuring tape applied to the midpoint between the lower border of the rib cage and the iliac crest, which

was assumed to be the best position to evaluate visceral adiposity. Values of 94 cm in males and 80 cm in females were considered as above the normal range, as recommended by the IDF for European males and females.

Blood pressure. Systolic and diastolic BP were measured in both right and left arms using a random zero sphygmomanometer with the patient in a supine position, with 3 readings being taken on each upper extremity. The final BP was the mean of the measured BP and the values obtained from the past medical record. Systolic BP 130 mmHg and/or diastolic BP 85 mmHg were considered above normal.

Peripheral neuropathy and diabetic foot. Comprehensive foot examination was carried out in each patient and reflexes were checked in the legs. Loss of superficial and deep sensation was noted.

Data from the Medical Records

Past and present medical history. Previous CVD, present cardiovascular events, electrocardiogram (ECG) changes, ultrasound, and examinations by specialist doctors (including neuropathy, claudication, retinopathy, and nephropathy) were used to confirm the diagnosis. Additional information regarding the current cardiovascular situation of each patient was obtained by going through the medical records.

Laboratory investigations. Biochemical analyses of the selected patients were obtained by going through the medical history of the respective patient within the department. The values of all biochemical analyses were the average of values obtained on several occasions prior to admission and follow-up during the whole duration of admission. The analyses were obtained after an overnight fast, especially of FBG and cholesterol profile (total cholesterol, TG levels, HDL, LDL). Liver function tests (ALAT and ASAT) and coagulogram data were also obtained. Serum creatinine levels were obtained and GFR was calculated using the Cockcroft and Gault formula.

Statistical Analysis

Multivariable models were adjusted for continuous data and non-continuous data. The continuous data included age (years), duration of T2DM (years), age at which T2DM was diagnosed (years), age of first CVD occurrence (years), past cardiovascular events (number), BP (mmHg), BMI (kg/m²), WC (cm), FBG (mmol/L), lipid profile (total cholesterol, TG, LDL, HDL (mmol/L), GFR (ml/min)), serum creatinine (mg%), ALAT (U/L), ASAT (U/L), APTL (seconds), the prothrombin index (%), fibrinogen (g/L), and D-dimers (mkg/L).

The results of continuous variables were given as means \pm standard deviation and categorical variables as percentages, unless stated otherwise.

Complications of T2DM, e.g. peripheral neuropathy (“yes” and “no”) and treatment for T2DM (insulin, oral, diet, none), were non-continuous data.

Pie charts and bar charts were used to represent the results obtained in the study population. Biomarkers of continuous variables were normally distributed.

Pearson's Correlation Coefficients were calculated for each pair of biomarkers. Linear regression, X-Y equation, and R2 value were generated and were used to assess the correlation between the biomarkers.

One-way ANOVA (Analysis of Variances) was used to compare two groups of continuous variables, represented by Simple Box plot.

All p-values mentioned were two-tailed and were considered to be significant if $p < 0.05$. All analyses were performed with Microsoft Excel 2002 and SPSS 13.0 for Windows.

Results

1 Clinical and Laboratory Investigations in T2DM Patients with CVD

Among type 2 diabetic patients with CVD, over 98% had elevated FBG on several occasions according to their past medical records. Although the majority of them were on treatment for T2DM, they failed to maintain their blood glucose within the normal range (< 5.6 mmol/L). Besides elevated FBG, all the T2DM patients in the study population had at least one CVD risk factor, except for cigarette smoking. Among these were obesity, both central (present in 93% of the patients) and generalized (BMI > 25 kg/m²) (in 76% of the patients), and hypertension (90%). Dyslipidemia was recorded in 50% of the patients in the study population.

Elevation in serum creatinine and decline in renal function were observed in a considerable number of T2DM patients with CVD. Hyperfiltration was present in 11% and decline in renal function was observed in 67% of the study population. Figure 2 shows the percentage of patients in the study population who had abnormal clinical and laboratory investigations.

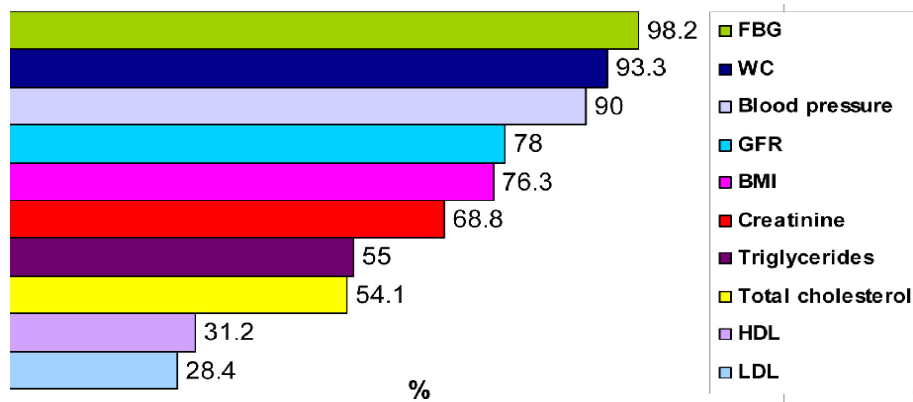


Fig. 2. Clinical and laboratory investigations in T2DM patients with CVD ($n = 109$)

2. attēls. Klīniskā un laboratoriskā atrade 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ar sirds un asinsvadu slimībām

Obesity, hypertension, elevated FBG were the dominant features in T2DM patients with CVD. Dyslipidemia, elevated serum creatinine, and decline in renal function were present in more than 50% of the patients.

There were 99 (91%) patients in the study population who fulfilled the criteria for metabolic syndrome according to the IDF World Classification of Metabolic Syndrome (2005) (increased WC, T2DM, and one component of the following: elevated BP, high TG, and low – 36 – HDL). Another interesting finding was that 4 patients who did not fulfill the 3 criteria for the metabolic syndrome had dyslipidemia.

2 Complications of Diabetes in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Cardiovascular Diseases

In T2DM patients with CVD ($n = 109$), peripheral neuropathy was the major complication observed, affecting 60 patients (55%). The occurrence of the various complications of diabetes is illustrated in Figure 3. Diabetic foot, nephropathy, and claudication were common in the female population; these pertained to over 40% of the female patients. Nephropathy and retinopathy were more common in male patients. Many patients were seen to have more than one complication at the time of investigation.

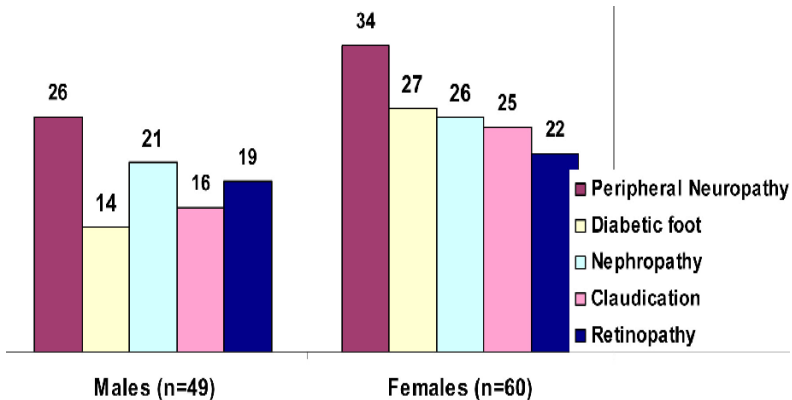


Fig. 3. Complications of DM in males and females with T2DM and CVD

3. attēls. Cukura diabēta komplikācijas 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ar sirds un asinsvadu slimībām

A predominance of peripheral neuropathy in both males and females was observed. Many patients presented a combination of several complications. Obesity, hypertension, elevated FBG, hypercholesterolemia, and hypertriglyceridemia were observed in all T2DM patients with CVD who had the above complications.

Peripheral neuropathy in T2DM patients with CVD. Peripheral neuropathy was defined as decreased sensation in the feet and depressed or absent ankle reflexes. Over 55% of the T2DM patients with CVD ($n = 60$) had peripheral neuropathy (26 males, 53%; 34 females, 57%). 16 patients diagnosed with T2DM after the presentation of a cardiac event were found to have peripheral neuropathy.

Diabetic nephropathy in T2DM patients with CVD. Figure 4 (a) illustrates the occurrence of diabetic nephropathy in T2DM patients with CVD. Among the 109 patients, 47 patients (43%) had diabetic nephropathy (21 males and 26 females).

Figure 4 (b) shows the frequency of diabetic nephropathy in T2DM patients with CVD depending on the duration of T2DM.

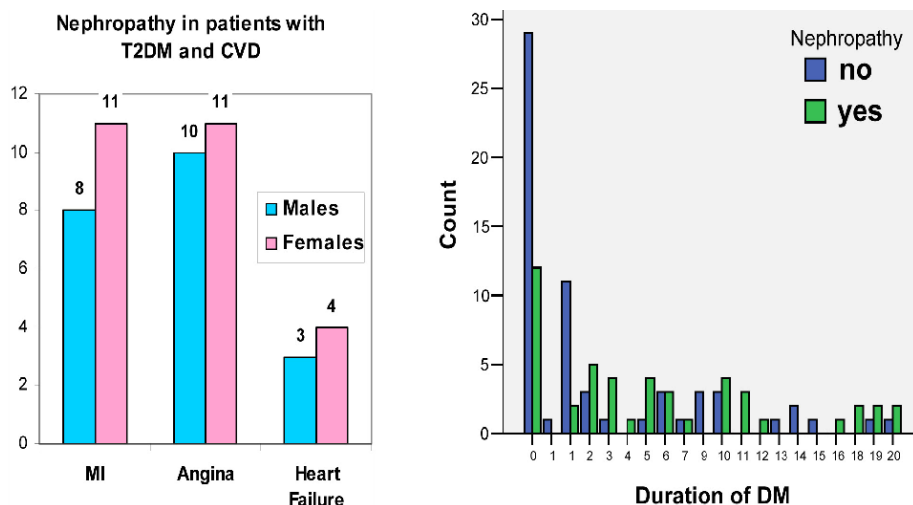


Fig. 4. Diabetic nephropathy in T2DM males and females with CVD (a) and its frequency depending on the duration of diabetes mellitus (b)

4. attēls. a. Diabētiskā nefropātija 2. tipa cukura diabēta slimniekiem kā vīriešiem, tā sievietēm ar sirds un asinsvadu slimībām. b. Nefropātijas biežums 2. tipa cukura diabēta slimniekiem atkarībā no slimības ilguma

More than 40% of the patients in the study had diabetic nephropathy. Diabetic nephropathy was also observed in newly diagnosed T2DM patients after exhibiting CVD. Some type 2 diabetics had not developed nephropathy after 10 years with T2DM.

Diabetic nephropathy was already present in patients who were newly diagnosed with T2DM on admission. This shows that these patients had had T2DM for a very long time, but had not been diagnosed. In these patients, CVD was the first sign of T2DM.

An increase in serum creatinine concentration is associated with a decline in renal function. There was a strong negative correlation between the serum creatinine levels and GFR ($r = -0.679$; $p < 0.0005$).

Figure 5 shows an interesting finding involving the relationship between serum creatinine levels and HDL in T2DM patients with CVD. Patients who had high HDL levels had low serum creatinine and vice versa in the patients with low HDL levels. There was a strong negative correlation between HDL levels and serum creatinine ($r = -0.403$; $p < 0.0005$). This is in line with the expected positive correlation between HDL and GFR ($r = 0.266$, $p = 0.005$).

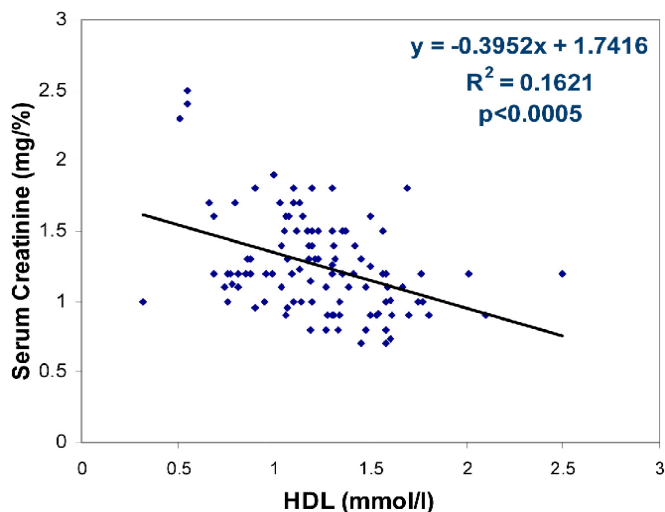


Fig. 5. Negative correlation between HDL and serum creatinine in T2DM patients with CVD

5. attēls. Negatīva korelācija starp augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīnu un kreatinīna koncentrāciju asins serumā 2. tipa cukura diabēta pacientiem ar sirds un asinsvadu slimībām

Patients who had the most elevated serum creatinine levels had the lowest HDL levels. These patients also had the lowest GFR. Patients with high HDL levels had low serum creatinine levels and better renal function.

3 Clinical Differentiation between MI and Angina in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus

3.1 Evaluation of T2DM Patients with MI on Admission

40 T2DM patients of the study population had MI, 17 males (42.5%) and 23 females (57.5%). The mean age in the male T2DM patients with MI was 66 \pm 13 years (ranging from 45 to 86 years), and in the female patients the mean age was 72 \pm 6 years (ranging from 60 to 85 years).

The duration of diabetes in the T2DM patients with MI was 4.8 \pm 5.79 years. The maximum duration of diabetes was 19 years in this group. 14 patients (35%) were recently diagnosed with T2DM and were not receiving any treatment for it.

There was no incidence of MI among males who were receiving insulin treatment.

12 men who were on oral hypoglycemics had MI. 5 male patients were diagnosed with T2DM on admission with an episode of MI.

Among the female patients, 8 were on insulin therapy, 6 were on oral hypoglycemics. 9 female patients were diagnosed with T2DM after being admitted with MI.

Insulin was beneficial in males with no cases of MI. A high number of T2DM patients who were on diet and oral hypoglycemics exhibited MI.

Clinical and Laboratory Investigations of T2DM Patients with MI

Central adiposity is marked in all the T2DM patients with MI. Hypertension was observed in more than 75% of the patients with MI.

Elevated FBG and serum creatinine and decline in the renal function was observed in a big proportion of the patients with MI. Figure 6 shows the percentage of the T2DM patients with MI who had abnormal range of the clinical and laboratory investigations.

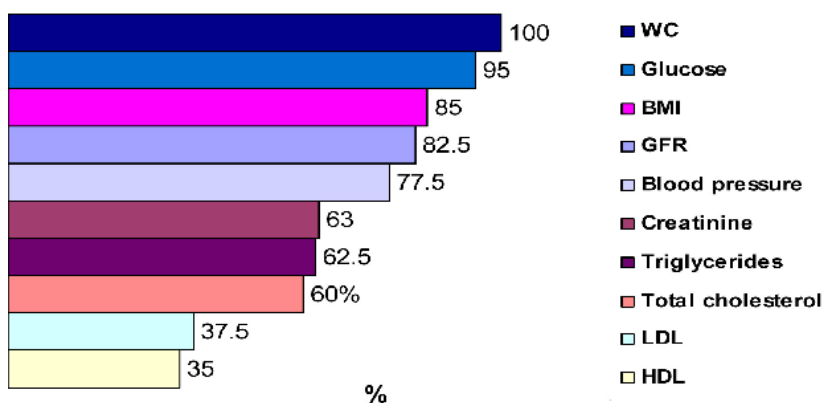


Fig. 6. The percentage of T2DM patients with MI who had abnormal clinical and laboratory investigations

6. attēls. *Klīniskā un laboratoriskā atrade 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ar miokarda infarktu*

All the patients had central adiposity.

Complications of Diabetes in T2DM Patients with MI

Peripheral neuropathy was the main complication in T2DM patients with MI, which accounted for 55% of all patients with MI ($n = 22$), followed by nephropathy ($n = 19$). Retinopathy was least recorded among female patients, as illustrated in Figure 7.

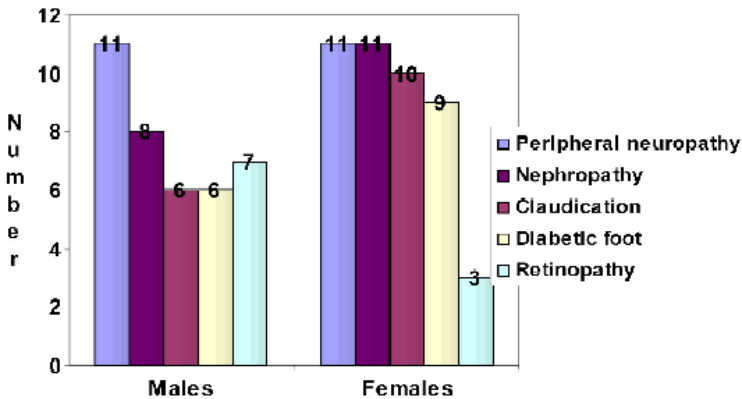


Fig. 7. Complications of diabetes in T2DM patients with MI

7. attēls. *Komplikācijas 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ar miokarda infarktu*

Over 50% of patients exhibited peripheral neuropathy, followed by nephropathy.

3.2 Evaluation of T2DM Patients with Angina on Admission

In the study, angina included stable angina, progressive angina, and unstable angina. The total number of T2DM patients who exhibited angina was 52. There were 24 males (46%) and 28 females (54%). The mean age of T2DM patients with angina was 66 +/- 10 years (ranging from 48 to 84 years).

The mean duration of diabetes in T2DM patients with angina was 4.8 +/- 6.4 years. The maximum duration of diabetes in patients with angina was 20 years. 22 patients (42%) admitted with angina were newly diagnosed with T2DM. Insulin did not prevent the occurrence of angina as it was the case for MI, where no male patients who were on insulin therapy were admitted with MI. A high number of patients with angina were newly diagnosed with T2DM.

Clinical and Laboratory Investigations in T2DM Patients with Angina

All T2DM patients with angina had elevated FBG levels (> 5.6 mmol/l). Most male patients who had angina had a WC greater than 94 cm and women – greater than 80 cm. More than 90% of the T2DM patients with angina were hypertensive. Figure 8 shows the percentage of the T2DM patients with angina who had abnormal clinical and laboratory investigations.

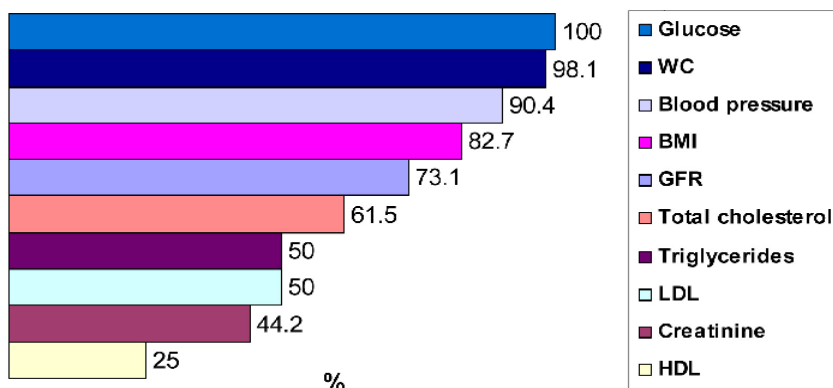


Fig. 8. The percentage of T2DM patients with angina who had abnormal clinical and laboratory investigations

8. attēls. *Klīniskā un laboratoriskā atrade 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ar stenokardiju*

All patients had elevated FBG. Obesity, hypertension, dyslipidemia, and decline in renal function were highly prevalent among the T2DM patients with angina.

Complications of Diabetes in T2DM Patients with Angina

More than 55% of type 2 diabetics with angina were suffering from peripheral neuropathy (12 males and 17 females). Retinopathy and diabetic foot were more common in female T2DM patients with angina (> 50%), whereas claudication and nephropathy were more common in male patients, as illustrated in Figure 9.

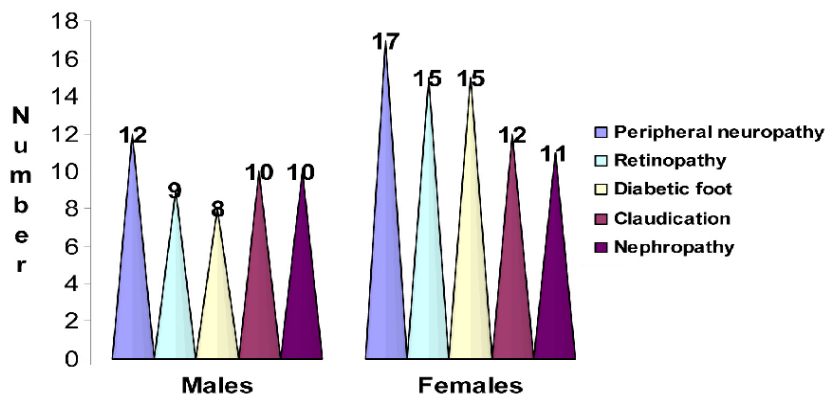


Fig. 9. Complications of diabetes in T2DM patients with angina

9. attēls. *2. tipa cukura diabēta komplikācijas slimniekiem ar stenokardiju*

Over 50% of the patients exhibited peripheral neuropathy. Retinopathy and diabetic foot were more prevalent in females, whereas claudication and nephropathy were more common in males.

3.3 Clinical Differentiation between MI and Angina in T2DM Patients

Based on the availability of the clinical and laboratory data, a comparative study was carried out to evaluate why some T2DM patients had MI while the other group of patients had angina.

T2DM patients who had MI were older than those with angina ($p = 0.042$; $f = 4.251$, ANOVA). The mean age of T2DM patients with MI was 69.7 vs 65.5 years in the T2DM patients with angina, as illustrated in Figure 10 (a).

T2DM patients with MI had their first CVD event at a much older age compared to the patients with angina ($p = 0.038$; $f = 4.430$, ANOVA). The mean age of the first CVD event in T2DM patients with MI was 67.0 vs 62.4 years in the patients with angina, as illustrated in Figure 10 (b).

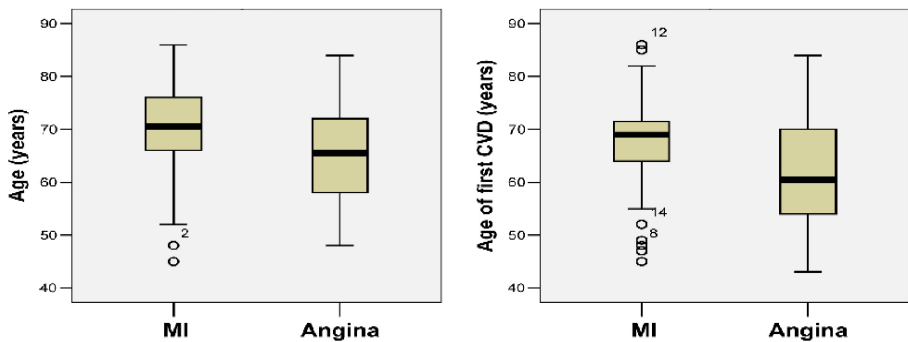


Fig. 10. Age difference in T2DM patients with MI and angina (a) and occurrence of the first CVD event (b) in the 2 groups

10. attēls. a. Vecuma atšķirības 2. tipa cukura diabēta pacientiem ar miokarda infarktu un stenokardiju. b. Vecuma atšķirības pacientiem ar pirmo miokarda infarktu un stenokardiju

MI patients were older and had their first CVD event at an older age than those with angina.

Due to the lack of statistically significant results, further laboratory investigations, subject to availability, were evaluated to see any significant difference between the 2 groups. They included ASAT, ALAT, and coagulogram picture (Fibrinogen, Prothrombin time, APTL, and D-dimers). Unfortunately, these results were not significant either.

Clinical Differentiation between MI and Angina in Male T2DM Patients

Higher diastolic BP was observed in male T2DM patients with MI compared to those with angina ($p = 0.045$, $f = 4.271$, ANOVA). The mean diastolic BP in male T2DM patients with MI was 92.9 mmHg vs 85.5 mmHg in those with angina, as illustrated in Figure 11.

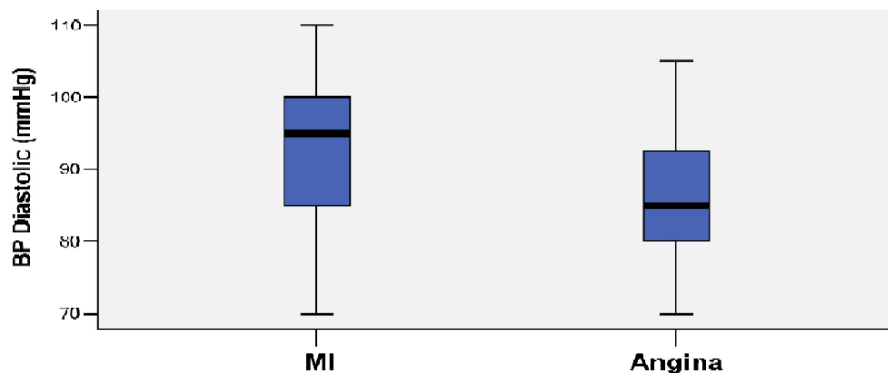


Fig. 11. Differences between the diastolic pressure in the male T2DM patients with MI and angina

11. attēls. *Diastoliskā arteriālā asinsspiediena atšķirības pacientiem ar miokarda infarktu un stenokardiju*

Male T2DM patients with MI had higher diastolic pressure than those with angina ($p = 0.045$).

There was a significant difference in the HDL levels between male T2DM patients with MI and those with angina ($p = 0.002$, $f = 4.456$, ANOVA). Male T2DM patients with MI had lower HDL levels than those with angina (1.09 vs 1.33 mmol/L), as shown in Figure 12.

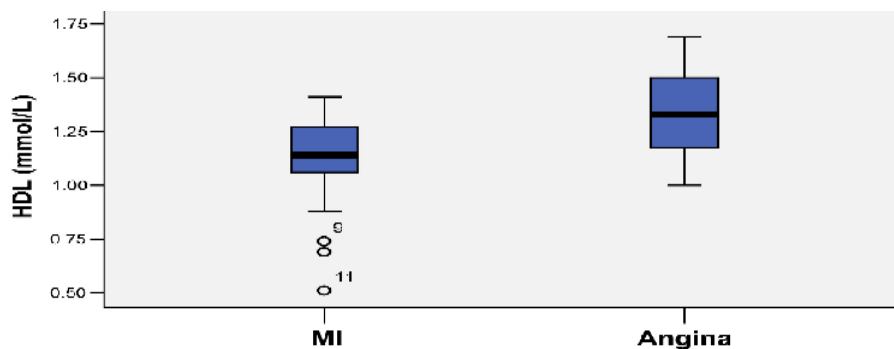


Fig. 12. Differences between HDL levels in the male T2DM patients with MI and angina

12. attēls. *Augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīna atšķirības pacientiem ar miokarda infarktu un stenokardiju*

MI patients had lower levels of HDL compared to those with angina ($p = 0.002$).

Fibrinogen levels seemed to have a major role in the development of MI in the male T2DM patients ($p = 0.014$, $f = 6.646$, ANOVA). Male T2DM patients with MI had higher levels of fibrinogen than those with angina (5.06 vs 4.50 g/L), as shown in Figure 13. The normal level of fibrinogen is from 1.5 to 4.0 g/L.

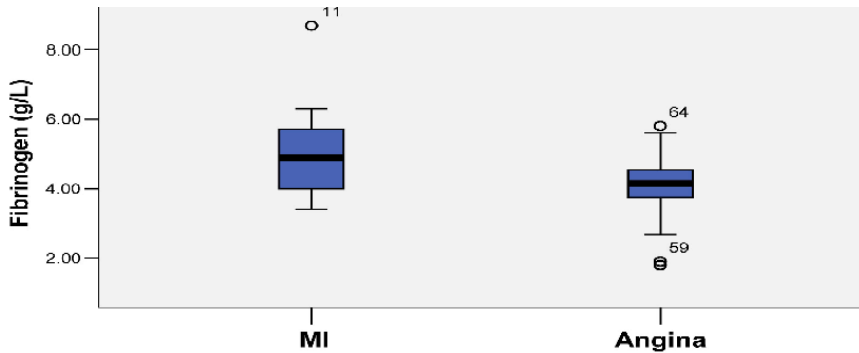


Fig. 13. Difference between the levels of fibrinogen in the male T2DM patients with MI and angina

13. attēls. Fibrinogēna koncentrācija vīriešiem ar 2. tipa cukura diabētu un miokarda infarktu vai stenokardiju

Male T2DM patients with MI had higher levels of fibrinogen than those with angina ($p = 0.014$).

Clinical Differentiation between MI and Angina in Female T2DM Patients

Different results were obtained in the female T2DM patients with MI and angina compared to the male patients with MI and angina.

Female type 2 diabetics with MI were older compared to those who had angina ($p = 0.016$, $f = 6.176$, ANOVA). The mean age of the females with MI was 72.2 vs 66.2 years in those with angina, as represented in Figure 14.

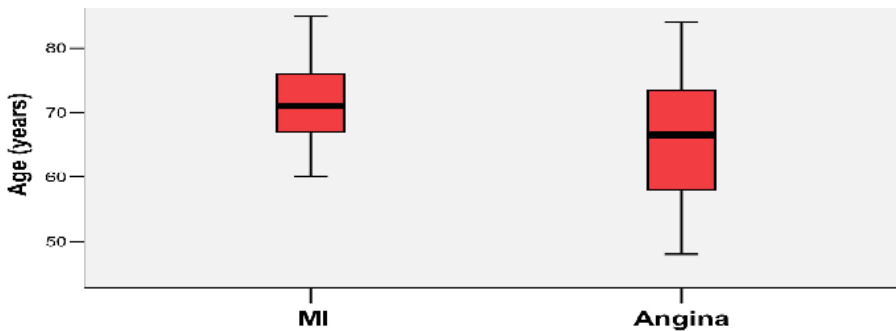


Fig. 14. Age difference between the female T2DM patients with MI and angina

14. attēls. Vecuma atšķirības 2. tipa cukura diabēta pacientiem ar miokarda infarktu un stenokardiju

Female T2DM patients with MI were older than those with angina ($p = 0.016$).

Female T2DM patients with angina had higher concentrations of D-dimers compared to those with MI ($p = 0.023$, $f = 5.544$, ANOVA). The mean concentration of D-dimers in female T2DM patients with angina was 369.1 vs 237.2 mkg/L in those with MI, as illustrated in Figure 15. Normal concentration of D-dimers is 50–228 mkg/L.

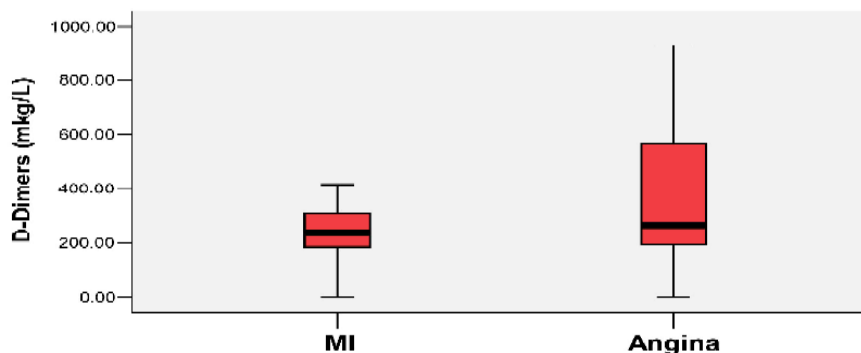


Fig. 15. Difference in D-dimer concentration in female T2DM patients with MI and angina

15. attēls. *D-Dimēra asins koncentrācijas atšķirības 2. tipa cukura diabēta pacientiem ar miokarda infarktu un stenokardiju*

Female T2DM patients with angina had higher D-dimer concentration than those with MI.

Discussion

Among CVDs in T2DM patients, angina (48%) and MI (37%) were the leading causes of admission. There was a female predominance in both diseases. Newly diagnosed patients with T2DM accounted for 35% and 40% of all patients with MI and angina, respectively.

T2DM patients with MI were found to have abdominal obesity (100%), HT (> 75%); elevated FBG (95%), and decline in their renal function (70%), whereas those with angina had elevated FBG (100%), were obese and hypertensive (> 90%). Peripheral neuropathy and nephropathy were the major complications in both groups.

Clinical and laboratory data were analyzed using statistical methods of ANOVA in order to differentiate between the T2DM patients who had MI and those who had angina. Because both groups had nearly similar factors, the only distinct feature was, when the patients were compared, irrespective of gender, the age difference between them. Patients with MI were found to be older than the patients with angina (69.7 vs 65.5 years, $p = 0.042$). As discussed earlier, age is a major factor in the development of MI among diabetic patients.

In this study, it was found that males and females had different factors that could distinguish between the occurrence of MI or angina. In a 12 year follow-up in Finland, involving 14 786 men and women aged 25 to 64, it was found that half of the difference in CHD risk between men and women was associated with the sex differences in cardiovascular risk factors, especially the HDL/total cholesterol ratio and smoking. Differences in serum total cholesterol, BP, BMI, and prevalence of

DM accounted for about one-third of the age-related increase in CHD prevalence in men and 50 to 60% in women (Jousilahti P. et al, 1999).

Atherosclerosis is responsible for almost all cases of CHD. It was found that there are a variety of factors, often acting together, associated with an increased risk for atherosclerotic plaques in coronary arteries and other arterial beds (Wilson P. W., 1994). In addition to the importance of T2DM as a risk factor, T2DM patients have a greater burden of other atherogenic risk factors than nondiabetics, including HT, obesity, hypercholesterolemia, dyslipidemia, family history, lifestyle factors, CKD, and in women after menopause, hypoestrogenemia.

Diabetic nephropathy is a common problem which occurs mostly in patients who have worse glycemic control, HT, glomerular hyperfiltration, or a genetic predisposition. Among the 109 T2DM patients with CVD, 43% were affected by diabetic nephropathy. Many of them were found to have microalbuminuria and nephropathy. This showed a poor awareness of symptoms of diabetic nephropathy and poor screening programme in Latvia.

Elevated FBG (the mean of 9.9 mmol/L) was observed in T2DM patients exhibiting CVD who had diabetic nephropathy. It is thought that hyperglycemia directly induces mesangial expansion and injury, perhaps in part via increased matrix production or glycosylation of matrix proteins (Harris R. D. et al, 1991; Heilig C. W. et al, 1995), and also causes mesangial cell apoptosis (Mishra R. et al, 2005; Lin C. L. et al, 2006). Mesangial cell expansion seemed to be mediated in part by an increase in the mesangial cell glucose concentration, since similar changes in mesangial function could be induced in a normal glucose milieu by overexpression of glucose transporters, thereby enhancing glucose entry into the cells (Heilig C. W. et al, 1995).

Diabetic nephropathy is linked to severe morbidity in T2DM patients. Therefore, the finding of microalbuminuria is an indication for screening for possible vascular disease, and aggressive intervention is needed to reduce all cardiovascular risk factors (e.g. lowering of TG, cholesterol, antihypertensive therapy, institution of exercise, etc). In addition, there is some preliminary evidence suggesting that lowering of cholesterol may also reduce the level of proteinuria.

It was found that the patients in the study population had at least one established risk factor other than age, gender, and T2DM. However, it is clear that there are other risk factors, not all treatable, that may be important. The additive value of screening for these risk factors has not been firmly established, and there is only limited evidence that targeted therapeutic intervention will reduce the risk associated with these factors. These risk factors are numerous. Among the most commonly studied are coronary artery calcification, left ventricular hypertrophy, ECG abnormalities at rest and during exercise, chronotropic incompetence, elevated levels of homocysteine, decreased levels and intake of folate and vitamin B12.

The risk factors also include markers of inflammations (CRP, high white blood cell count, especially neutrophils, erythrocyte sedimentation rate (ESR), decrease in the serum albumin concentration, increased leukocyte enzyme myeloperoxidase, increased serum IL-18 in men, plasma interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNF) alpha, increased serum concentration of soluble intercellular adhesion

molecule-1 (sICAM-1), P-selectin, soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) and E-selectin, phospholipase A2 in women. Elevation of plasma fibrinogen levels and D-dimers are also included in the list (Hackam D. G. & Anand S. S., 2003).

Males. In the male T2DM patients, besides the common factors like age, obesity, HT, dyslipidemia, elevated serum creatinine, and decline in renal function, it was found that the patients with MI had elevated diastolic BP (92.9 vs 85.5 mmHg, $p = 0.045$), lower HDL levels (1.09 vs 1.33 mmol/L, $p = 0.002$) and higher fibrinogen levels (5.06 vs 4.50 g/L, $p = 0.014$) compared to those with angina.

In patients with T2DM, it has been found that parallel to dyslipidemia (especially hypertriglyceridemia) and physical inactivity, there is impaired fibrinolysis. Fibrinogen (also called factor I) is a glycoprotein which is synthesized in the liver hepatocytes and megakaryocytes. Fibrinogen plays key roles in both blood clotting and platelet aggregation. In its natural form, fibrinogen is useful in forming bridges between platelets, by binding to their GpIIb/IIIa surface membrane proteins. In addition to platelet aggregation, platelet-fibrinogen interaction mediates both adhesion and fibrin clot retraction. Analysis by the large-scale EUROSTROKE project showed that fibrinogen was a powerful predictor of a sudden and severe attack – including fatal and nonfatal strokes, first time strokes, and hemorrhagic and ischemic strokes. Importantly, higher levels of fibrinogen raised the risk of stroke independently of cardiovascular risk factors such as HT (Bots M. L. et al, 2002).

High BP and high fibrinogen levels appeared to be the most dangerous combination, elevating the person's risk of MI even more, as seen in the male study population. The association of fibrinogen with increased morbidity is probably directly related to its ability to promote thrombosis, or clots, by causing platelets to clump inside blood vessels. This is one of the main mechanisms underlying MI. It has been shown that exercise, quitting smoking, and certain medications can lower fibrinogen in the short term (Bots M. L. et al, 2002). A number of studies show that elevated fibrinogen is a major risk factor for MI and strokes. In fact, fibrinogen may possibly be the major risk factor, exceeding the contributions of cholesterol and other lipids in the pathogenesis of this disease.

No drug or lifestyle change have been known to significantly modify fibrinogen levels, although quitting smoking resulted in slight reductions in fibrinogen levels in a few studies. However, for those who do not smoke, there has been little, if any, advice of how to lower fibrinogen. It has been suggested that nutritional supplements could decrease fibrinogen levels and presumably the inherent risk of hyper-fibrinogenemia-related diseases. Studies in Spain have demonstrated that certain antioxidants were capable of dramatically reducing blood levels of lipid peroxides and oxidized lipoproteins after only 15 days with no adverse effects noted by any of the subjects or adverse changes in any other blood chemistries.

Females. In the study population, female T2DM patients with MI were found to be older (72.2 vs 66.2 years, $p = 0.016$). As discussed earlier, age is a major risk factor for MI.

High concentration of D-dimers was found to be associated with angina in female T2DM patients under the age of 67 years (369.1 vs 237.2 mkg/L; $p = 0.023$). Serum

D-dimer is a breakdown product of cross-linked fibrin. Elevations in this fragment are seen in primary and secondary fibrinolysis, during thrombolytic or defibrination therapy with tissue plasminogen activator, as a result of thrombotic disease, such as deep-vein thrombosis, pulmonary embolism, or disseminated intravascular coagulation (DIC), in vasoocclusive crisis of sickle cell anemia, in malignancies, and in surgery.

D-dimers are mainly used to diagnose thrombosis and pulmonary embolism. According to the study “D-dimers in relation to the severity of arteriosclerosis in patients with stable angina pectoris after MI”, higher concentrations of D-dimers were observed in patients with generalized arteriosclerosis (Tataru M. C. et al, 1999). This indicates that there was an increase in fibrinolytic activity in the patients with severe arteriosclerosis.

Some studies have shown that the endogenous fibrinolytic system is activated during both the stable and the unstable stages of arteriosclerosis (Lassila R. et al, 1993; Lee A. J. et al, 1995). Levels of D-dimers are a direct measure of the extent of intravascular fibrinolysis, since they are a direct byproduct of cross-linked fibrin degradation. Increase in concentration of D-dimers is associated with enhanced intravascular fibrin degradation. In the area of cholesterol-rich plaques or arteriosclerotic plaques, as well as in appositional thrombi, it has been suggested that there is an increase in the metabolism of cross-linked fibrin. This results in an increase in D-dimer concentration in the plasma (Lassila R. et al, 1993; Lee A. J. et al, 1995; Smith E., 1986).

The increase in D-dimer concentration has also been shown to be proportional to the development of arteriosclerosis in patients with PAD (Lassila R. et al, 1993). There was an approximately 5-fold increase in D-dimers in patients with unstable angina pectoris. It was also observed that D-dimers were elevated in patients with a left ventricular ejection fraction (Kruskal J. B. et al, 1987). This finding is an indication that the hemodynamic situation has an effect on fibrin turnover, which could proportionally explain the increase of D-dimers in the women of this study population.

This study also agrees with other studies where higher D-dimer concentrations were recorded in women compared to men (465 vs 294 mkg/L, $p = 0.044$) (Tataru M. C. et al, 1999). This finding may indicate a higher prevalence and the greater extent of arteriosclerotic changes in the female study population.

Summary

1) T2DM patients with MI had abdominal obesity (100%), HT (> 75%), elevated FBG (95%), and decline in their renal function (70%). T2DM patients with angina had elevated FBG (100%), were obese and hypertensive (> 90%). There was no incidence of MI among males who were on insulin therapy. Peripheral neuropathy and nephropathy were the major complications both in T2DM patients with MI and angina.

2) Male and Female T2DM patients had different factors that lead to either MI or angina.

- Males with MI had elevated diastolic BP (92.9 vs 85.5 mmHg; $p = 0.045$), lower HDL levels (1.09 vs 1.33 mmol/L; $p = 0.002$), and higher fibrinogen levels (5.06 vs 4.50 g/L; $p = 0.014$) compared to those with angina.
- Females with MI were older (72.2 vs 66.2 years; $p = 0.016$) compared to those with angina.

3) High concentration of D-dimers in female T2DM patients under the age of 70 years was associated with angina (369.1 vs 237.2 mkg/L; $p = 0.023$).

Conclusions and Recommendations

Diastolic hypertension, low HDL levels, and increased fibrinogen concentrations in male patients were found to be associated with MI. It would therefore be worth keeping an eye on those exhibiting these deranged levels. Insulin could be the first line treatment from the very beginning as there was no incidence of MI in male patients receiving insulin treatment.

Special attention needs to be drawn to post menopausal women, especially those over 70 years, as they are at a higher risk of developing MI. Mandatory measurements of D-dimer concentration in female T2DM patients under the age of 70 years could prove useful in identifying those at risk of angina, as high concentrations of D-dimers were associated with angina.

Judging by the findings of this study, clinical and laboratory investigations clearly play an important role in identifying high risk patients for the progression of cardiovascular complications in T2DM. This study can therefore be used to formulate new approaches in the screening and treatment of T2DM patients.

References

- 1) Bots M. L., Elwood P. C., Nikitin Y. et al. (2002) The EUROSTROKE cohorts. *J. Epidemiology Community Health*, Vol. 56, (Suppl. I): i14–i18.
- 2) Hackam D. G. & Anand S. S. (2003) Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease: a critical review of the evidence. *Journal of American Medical Association*, Vol. 290, pp. 932–940.
- 3) Harris R. D., Steffes M. W., Bilous R. W. et al. (1991) Global glomerular sclerosis and glomerular arteriolar hyalinosis in insulin-dependent diabetes. *Kidney International* 40: 107–114.
- 4) Heilig C. W., Concepcion L. A., Riser B. L. et al. (1995) Overexpression of glucose transporters in mesangial cells cultured in a normal glucose milieu mimics the diabetic phenotype. *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 96, pp. 1802–1814.
- 5) Jousilahti P., Vartiainen E., Tuomilehto J. et al. (1999) Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation*, Vol. 99, pp. 1165–1172.
- 6) Kruskal J. B., Commerford P. J., Franks J. J. et al. (1987) Fibrin and fibrinogen-related antigens in patients with stable and unstable coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*, 317, 1361–1365.
- 7) Lassila R., Peltonen S., Lepantalo M. et al. (1993) Severity of peripheral atherosclerosis is associated with fibrinogen and degradation of cross-linked fibrin. *Arteriosclerosis Thrombosis*, Vol. 13, pp. 1738–1742.

- 8) Lee A. J., Fowkes F. G. R., Lowe G. D. O. et al. (1995) Fibrin D-dimer, haemostatic factors and peripheral arterial disease. *Thrombosis Haemostasis*, Vol. 74, pp. 828–832.
- 9) Lin J., Hu F. B., Rimm E. B. et al. (2006) The association of serum lipids and inflammatory biomarkers with renal function in men with type II diabetes mellitus. *Kidney International*, Vol 69, pp. 336–342.
- 10) Mishra R., Emancipator S. N., Kern T. et al. (2005) High glucose evokes an intrinsic proapoptotic signaling pathway in mesangial cells. *Kidney International*, Vol 67, pp. 82–93.
- 11) Smith E. (1986) Fibrinogen, fibrin and fibrin degradation products in relation to atherosclerosis. *Clinical Haematology*, Vol. 15, pp. 355–370.
- 12) Tataru M. C., Heinrich J., Junker R. et al. (1991) D-dimers in relation to the severity of arteriosclerosis in patients with stable angina pectoris after myocardial infarction. *European Heart Journal*, Vol. 20, pp. 1493–1502.
- 13) Wilson, P. W. (1994) Established risk factors and coronary artery disease: the Framingham Study. *American Journal of Hypertension*, Vol. 7, pp. 7S–12S.

Kopsavilkums

Kardiovaskulārās slimības (KVS) ir galvenais saslimstības un mirstības cēlonis Latvijā, kurš ļoti daudzos gadījumos ir saistīts ar 2. tipa cukura diabētu.

Darba mērķis ir novērtēt miokarda infarkta un stenokardijas klīniskās pazīmes 2. tipa cukura diabēta pacientiem.

Materiāls un darba metodes. Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Kardioloģijas nodaļā tika novēroti 109 slimnieki (49 vīrieši un 60 sievietes 67 ± 10 g. v.). Pirmreizēji 2. tipa cukura diabēts tika diagnosticēts 41 slimniekam (38% gadījumu). Stenokardija tika diagnosticēta 48% ($n = 52$) un miokarda infarkts 37% ($n = 40$), bet sirds mazspēja 15% ($n + 17$) pacientu. Pirms iestāšanās slimnīcā 22% slimnieku ($n = 24$) tika ārstēti ar insulīnu, bet 40% slimnieku ($n = 44$) tika ārstēti ar orāliem hipoglikemizējošiem medikamentiem.

Rezultāti. Visiem 2. tipa cukura diabēta pacientiem bija vismaz viens sirds slimību riska faktors: adipozitāte (97%), hipertensija (90%), dislipidēmija (50%), paaugstināta kreatinīna koncentrācija asins serumā (54%) un pazemināts glomerulu filtrācijas ātrums (67%). Perifērā neiropātija bija biežāk novērojamā komplikācija 2. tipa cukura diabēta pacientiem (55%). Slimniekiem, kuriem 2. tipa cukura diabēts tika diagnosticēts pirmo reizi, neiropātijas klīniskās pazīmes jau bija novērotas (55%). Izmantojot loģistiskās regresijas modeļus, konstatēts, ka vīriešiem ar miokarda infarktu bija augstāks diastoliskais spiediens 93 v/s 85 mm Hg; $p = 0,045$), augstāka fibriogēna koncentrācija ($5,06$ v/s $4,5$ g/L; $p = 0,014$) un zemāka ABL holesterīna koncentrācija ($1,09$ v/s $1,33$ mmol/L; $p = 0,002$) salīdzinājumā ar stenokardijas slimniekiem. Sievietes ar miokarda infarktu bija vecākas (72 v/s 66 ; $p = 0,016$) nekā slimnieces ar stenokardiju, kurām bija augstāka D-dimeru koncentrācija (369 v/s 237 mkg/L; $p = 0,023$).

ABL holesterīna samazināšanās asinīs cieši korelēja ar nieru funkcijas pasliktināšanos ($r = 0,266$; $p = 0,008$) risku un kreatinīna koncentrācijas paaugstināšanos asins serumā ($r = 0,403$; $p < 0,0005$).

Secinājumi. Miokarda infarkta un stenokardijas klīniskie simptomi un pazīmes 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ļoti bieži (37% gadījumu) parādās pirms diagnozes noteikšanas, kad jau ir novērojama diabētiskā neiropātija un iezīmējas nieru mazspēja ar visām tās klīniskajām pazīmēm.

Pirmsoperācijas ķīmijterapijas un molekulāro marķieru nozīme lokāli izplatīta krūts vēža ārstēšanā

Gunta Purkalne¹, Uldis Vikmanis²

¹Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Pilsoņu iela 13, Rīga, LV-1002

²Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001

E-pasts: *uldis.vikmanis@lu.lv*

Ievads

Krūts vēzis ir visbiežāk diagnosticētais vēzis sievietēm Eiropā, Ziemeļamerikā, Austrālijā un vairākās Latīņamerikas valstīs. Eiropā tas ir 20% sieviešu ar ļaundabīgo audzēju.

Lai gan gūti lieli panākumi vēža agrīnā diagnostikā un ārstēšanā, krūts vēzis joprojām izraisa nopietnus veselības traucējumus un ir biežākais nāves cēlonis sievietēm (1, 2).

Saslimstība ar krūts vēzi pieaug gan industriāli attīstītās, gan mazattīstītās valstīs (3, 4). No 1990. līdz 2002. gadam saslimstības pieaugums variē no 2,1% Kanādā līdz 54,2% Lietuvā (5).

Latvijā saslimstība ar krūts vēzi pēdējos 10 gados pieaugusi par aptuveni 18%, bet mirstība par 10% (6).

Salīdzinājumā ar Rietumeiropu saslimstība ar krūts vēzi Latvijā ir daudz mazāka, bet mirstība ir līdzīga. Piecu gadu dzīvildze krūts vēža slimniecēm Latvijā 2007. gadā sasniedza 65,2% un nav būtiski mainījusies pēdējos 10 gadus. Tas liecina par agrīnas diagnostikas un efektīvas ārstēšanas trūkumu Latvijā (5, 6).

Krūts vēzis Latvijā netiek diagnosticēts laikus. Primārs lokāli izplatīts vai metastātisks krūts vēzis III un IV stadijā jau ilgu gadus diagnosticēts aptuveni 30% krūts vēža slimnieču. Salīdzinājumā ar agrīnu krūts vēzi slimniecēm ar lokāli izplatītu krūts vēzi ir ievērojami lielāks lokāla recidīva un attālu metastāžu risks. Tādēļ ir aktuāli analizēt un meklēt optimālu risinājumu lokāli izplatīta krūts vēža ārstēšanā.

Klīniskie novērojumi un eksperimentālie pētījumi ar dzīvniekiem pagājušā gadsimta vidū pierādīja, ka krūts vēzis ir primāra sistēmiska slimība. Krūts vēža šūnu diseminācija sievietes organismā nereti vērojama jau pirms diagnozes noteikšanas. Lai gan pēcooperācijas profilaktiskās jeb adjuvantās sistēmiskās terapijas ieviešana ievērojami uzlaboja agrīna krūts vēža ārstēšanas rezultātus, tomēr aptuveni 40% gadījumu slimība recidivē lokāli vai attīstās attālas metastāzes. Turpmākie pētījumi liecināja, ka krūts vēža šūnas ir jutīgākas pret ķīmijterapiju pirmsoperācijas, nevis pēcooperācijas periodā. Tāpēc pagājušā gadsimta otrajā pusē klīniskajā praksē

krūts vēža ārstēšanā sāka lietot pirmsoperācijas jeb neoadjuvanto ķīmijterapiju (7). Kā pierāda klīniskie novērojumi, pirmsoperācijas ķīmijterapija veicina krūts audzēja izmēru mazināšanos un, iespējams, arī vēža mikrometastāžu izzušanu, kas nodrošina klīniski labvēlīgāku slimības gaitu. Tādējādi audzēja atbildes reakcija uz pirmsoperācijas ķīmijterapiju var būt svarīgs slimības recidīva un slimnieces dzīvildzes predikatīvs faktors un sniegt prognostisku informāciju īsā laika periodā, salīdzinot ar adjuvantas terapijas pētījumiem, kuru rezultāti iegūstami tikai pēc piecus līdz desmit gadus ilgās slimnieču novērošanas.

Lai veicinātu individuālu pieeju ārstēšanai un prognozētu slimnieču dzīvildzi, pēdējos 10 gados aizvien lielāku nozīmi ieguvuši molekulārie marķieri kā katrs atsevišķi, tā arī kombinācijā.

Pie svarīgiem molekulāriem marķieriem pieder steroīdhormonu receptori, cilvēka epidermālā augšanas faktora receptors 2 *cerbB-2/neu* (HER2) un proliferācijas marķieris Ki-67.

Slimnieces ar primāru lokāli izplatītu krūts vēzi veido heterogēnu grupu ar lielu dažādību lokālu recidīvu un dzīvildzes rādītāju ziņā. Molekulāro marķieru analīze pirms un pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas ļauj prognozēt tālākās sistēmiskās terapijas lietderību, izvēlēties efektīvākos medikamentus un sekmē individuālu pieeju ārstēšanai katrai konkrētai slimniecei.

Darba mērķis

Šī darba mērķis ir izvērtēt pirmsoperācijas ķīmijterapijas, molekulāro marķieru (proliferācijas indeksa Ki-67, cilvēka epidermālā augšanas faktora receptora-2 *cerbB-2* un steroīdhormonu receptoru) nozīmi ārstēšanas izvēlē un bezrecidīva dzīvildzi, piecu un desmit gadu dzīvildzi slimniecēm ar lokāli izplatītu krūts vēzi.

Materiāls un metode

Pētījumā iekļautas 246 slimnieces ar lokāli izplatītu krūts vēzi IIIA un IIIB stadijā, kuras saņēma kompleksu ārstēšanu. 52 slimniecēm ārstēšanu sāka ar pirmsoperācijas ķīmijterapiju (pirmā neoadjuvantās ķīmijterapijas slimnieču grupa). 168 slimnieces saņēma standarta kompleksu terapiju, kas sastāv no radikālas operācijas, profilaktiskas staru terapijas un profilaktiskas jeb adjuvantas medikamentozas terapijas (kontroles grupas slimnieces). Otrajā neoadjuvantās ķīmijterapijas grupā iekļautas 26 slimnieces, kurām pirms un pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas noteikti molekulārie marķieri – steroīdhormonu receptori, cilvēka epidermālā augšanas faktora receptors-2 *cerbB-2*, proliferācijas indekss Ki-67 un analizētas marķieru izmaiņas pirms un pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas saņemšanas. Katrai slimniecei tika izveidota novērojuma karte, kurā ievietota informācija pēc 28 raksturlielumiem, arī slimnieču vecums pa grupām; diagnoze pēc TNM sistēmas (T – audzēja lielums, N – reģionālo limfmezglu stāvoklis, M – attālo metastāžu esamība), citoloģiskās un histoloģiskās izmeklēšanas dati pirms ārstēšanas un galīgā histoloģiskā izmeklēšana pēc operācijas; audzēja diferenciācijas pakāpe, operācijas

veids un laiks; lietotās ķīmijterapijas veidi, shēmas, kursu skaits, staru terapijas veids un laiks, hormonreceptoru stāvoklis un endokrīnās terapijas veidi.

Pēc TNM sistēmas 142 slimniecēm audzējs bija lielāks par 5 cm un atbilda T 3. Visām slimniecēm ārstēšanas plāns tika nolemts multidisciplinārā onkologu konsijā, kurā piedalījās ķirurgs onkologs, radiologs terapeits un onkologs ķīmijterapeits.

101 kontrolgrupas dalībnieci ārstēšanu sāka ar operāciju, un pēc indikācijām sekoja pēcoperācijas adjuvanta staru terapija un adjuvanta ķīmijterapija vai adjuvanta endokrīna terapija ar antiestrogēnu tamoksifēnu pa 20 mg dienā vismaz divus gadus. 67 slimnieces pirms operācijas saņēma staru terapiju un pēc indikācijām adjuvantu ķīmijterapiju vai endokrīnu terapiju.

52 pirmās neoadjuvantās ķīmijterapijas grupas slimniecēm ar krūts audzēju T 3; T 4 vai paduses limfmezglu konglomerātu (N 2) ārstēšana sāka ar neoadjuvantu ķīmijterapiju.

Izvēlēto medikamentu shēmas bija četras. 46 slimnieces saņēma ķīmijterapiju pēc FAC shēmas, trīs slimnieces pēc CMF shēmas divām modifikācijām (ciklofosfamīds intravenozi vai iekšķīgi), un trīs slimnieces pēc CMFVP shēmas. Pēc katra neoadjuvantās ķīmijterapijas kursa klīniski tika vērtēts audzēja lielums un lemts par turpmāko taktiku.

Ja audzēja lielums pēc diviem kursiem nemainījās vai mazinājās < 50%, sekoja operācija. Ja audzējs mazinājās vismaz par 50%, slimnieces saņēma vēl 2–4 ķīmijterapijas kursus, kam sekoja operācija.

Tādēļ neoadjuvantās ķīmijterapijas kursu skaits variēja no 1 līdz 6.

No 52 slimniecēm 13 slimnieces, kam audzēja dinamika pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas netika novērota, pirms operācijas papildus saņēma staru terapiju. Minētajām slimniecēm audzējs atbilda T 3 vai T 4 vai arī bija paduses limfmezglu konglomerāti, kas radīja šaubas par radikālas operācijas iespēju bez pirmsoperācijas staru terapijas.

Pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas krūti saudzējošas operācijas netika izdarītas.

Visām slimniecēm veikta operācijas materiāla histoloģiskā analīze. Divos gadījumos (0,9%) izmeklējamā materiālā vēzis netika atrasts. Viena slimniece bija no neoadjuvantās ķīmijterapijas grupas, kas varētu liecināt par saņemtās neoadjuvantās ķīmijterapijas efektivitāti. Otrai slimniecei pirms operācijas bija izdarīta audzēja biopsija, kuras laikā, iespējams, izņemta visa audzēja masa.

Hormonreceptori – estrogēns (ER) un progesterons (PR) noteikti 122 no 220 (55,5%) pirmās neoadjuvantās ķīmijterapijas un kontrolgrupas slimniecēm, no kurām 56 tie bija pozitīvi, bet 66 negatīvi.

Pētījuma laikā hormonreceptori audzēja citosolā noteikti ar oglekļa metodi. Audzējs uzskatīts par hormonreceptoru pozitīvu, ja receptoru koncentrācija audzēja citosolā pārsniedza 5 f/mol/mg. Estrogēnu un progesteronu daudzums atsevišķi netika noteikts.

Pēc operācijas 94 slimnieces saņēma adjuvantu staru terapiju uz reģionāliem limfmezgliem un 67 slimnieces uz reģionāliem limfmezgliem un operācijas rētu. Pēcoperācijas staru terapijas deva: uz mastektomijas rētu – 45 Gy, uz paduses zonu – 40 Gy, uz supraklavikulāro, infraklavikulāro un retrosternālo zonu – 50 Gy.

135 slimnieces pēc operācijas saņēma adjuvantu ķīmijterapiju: 40 pēc FAC, 64 pēc CMF shēmas un 31 pēc CMF modifikācijas. Neoadjuvantās ķīmijterapijas grupā 42 slimnieces (80,8%) saņēma adjuvanto ķīmijterapiju. 26 slimniecēm (62%) izvēlēta ķīmijterapijas shēma bija FAC, 11 CMF un 6 CMF modifikācija. 130 slimnieces saņēma adjuvantu endokrīno terapiju.

Otrās neoadjuvantās ķīmijterapijas grupas 26 slimniecēm pirms terapijas veikta audzēja punkcija un aspirācija ar prognostisko faktoru – estrogēna un progesterona receptoru, proliferācijas indeksa Ki-67 un *cerbB-2* – noteikšanu. Aspirāts tika izmeklēts imūncitoloģiski, izmantojot monoklonālo antivielu LSAB+ Dako.

Slimnieces saņēma trīs ķīmijterapijas kursus pēc shēmas – antraciklīnu (*doksorubicīnu*) kombinācijā ar taksānu grupas medikamentu *paklitakselu*: doksorubicīns (A) 60 mg/m² un paklitaksels (T) 135 mg/m². Kursu atkārtoja ik pēc trim nedēļām. Pēc trešā neoadjuvantās ķīmijterapijas kursa tika vērtēts audzēja lielums pēc palpācijas, mastogrāfijas vai ultrasonogrāfijas datiem, kā arī atkarā no simptomiem izmeklēti krūškurvja orgāni, aknas un kauli, lai izslēgtu attālu metastāžu esamību. Visām slimniecēm veikta asinsainas un asins bioķīmisko raksturlielumu kontrole. 3–4 nedēļas pēc pēdējā ķīmijterapijas kursa visām slimniecēm veikta radikāla mastektomija pēc Madena modifikācijas. Pēc mastektomijas operācijas materiāls izmeklēts histoloģiski un imūnhistoķīmiski, lai noteiktu hormonreceptorus ER un PR, proliferācijas marķieri Ki-67 un *cerbB-2* receptora ekspresiju pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas. Pēcoperācijas ārstēšanas taktiku izlēma onkologu konsilijs, kurā piedalījās operējošais ķirurgs, staru terapeits un onkologs ķīmijterapeits. Aptuveni trīs nedēļas pēc operācijas visām slimniecēm sāka pēcoperācijas adjuvantā ķīmijterapija pēc AC shēmas: doksorubicīns (A) 60 mg/m² intravenozi 1. dienā un ciklofosfamīds (C) 600 mg/m² intravenozi 1. un 8. dienā. Kursu atkārtoja ik pēc trim nedēļām.

Katra slimniece kopā saņēma trīs adjuvantās ķīmijterapijas kursus. Pirms katra kursa tika analizēta medikamentu panesība, noteikta pilna asinsaina un asins bioķīmiskie raksturlielumi. Pēc operācijas visas slimnieces saņēma staru terapiju uz reģionālām limfatēces zonām (parasternālo, aksilāro un supraklavikulāro apvidu) un uz operācijas rētu. Staru terapija tika veikta ar lineāro paātrinātāju, deva uz reģionālo limfmezglu projekcijas apvidu bija 45–50 Gy, uz operācijas rētu – 50 Gy.

Slimnieces, kuru audzēji bija hormonreceptoru pozitīvi, pēc staru terapijas sāka endokrīno terapiju ar antiestrogēnu tamoksifēnu pa 20 mg dienā, un viņām ieteikts to turpināt divus līdz piecus gadus onkologa un ģimenes ārsta uzraudzībā.

Visas 246 pētījumā iekļautās slimnieces tika novērotas dinamikā pēc kompleksās ārstēšanas beigām atbilstoši starptautiskām vadlīnijām. Novērojuma kartē atzīmēts metastāžu rašanās laiks un vieta, remisijas ilgums un kopējā dzīvildze.

Rezultāti

Klīniskā un morfoloģiskā audzēja remisija pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas

Klīniskā un morfoloģiskā audzēja remisija ir visbiežāk lietotie objektīvie neoadjuvantās ķīmijterapijas efektivitātes raksturlielumi.

Klīniskā remisija šajā pētījumā vērtēta pēc tā, kā samazinās audzēja lielums pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas, krūti izmeklējot fizikāli.

Pirmajā grupā nevienai slimniecei pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas nebija pilna klīniska audzēja remisija, bet visām tika sasniegta daļēja remisija. Pusei slimnieču (26) audzējs mazinājās < 50%, bet otrai pusei (26) audzējs mazinājās \geq 50%. Objektīva radioloģiska audzēja izmeklēšana dinamiskā šai grupai netika veikta.

Otrajā grupā, kurā pirms un pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas noteikts molekulāro marķieru daudzums, palpatoriska audzēja pilna remisija pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas tika novērota vienai (4%) no 26 slimnieceīm, daļēja remisija 16 (62%) no 26 slimnieceīm un audzējs bez pārmaiņām palika piecām (19%) no 26 slimnieceīm. Četrām slimnieceīm audzēja dinamika netika vērtēta.

Otrās neoadjuvantās ķīmijterapijas grupas slimnieceīm audzēja dinamika tika vērtēta arī ar mastogrāfijas un ultrasonogrāfijas metodēm. Radioloģiskās izmeklēšanas dati nereti atšķīrās no fizikālās izmeklēšanas datiem: pilna remisija netika konstatēta nevienai slimniecei, daļēja bija septiņām (27%), un audzēja pārmaiņas netika novērotas 16 (61%) slimnieceīm. Trim slimnieceīm audzēja dinamika radioloģiski netika vērtēta.

Morfoloģiskā remisija tika noteikta pēc audzēja klātienas operācijas materiālā. Vienai no pirmās grupas dalībniecēm, kas bija saņēmusi neoadjuvantu ķīmijterapiju, sasniegta pilna morfoloģiska remisija, jo operācijas materiālā audzēja klātie ne tika konstatēta.

Otrajā grupā pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas histoloģiski operācijas materiālā audzēja pilna remisija netika konstatēta nevienai slimniecei (sk. 1. tab.).

1. tabula

Audzēja lieluma pārmaiņas pēc neoadjuvantas terapijas

	Izmeklēšana	
	Fizikālā	Radioloģiskā (MG/USG)
Pilna remisija	1 (4%)	0
Daļēja remisija	16 (64%)	7 (28%)
Bez pārmaiņām	4 (16%)	15 (60%)
Nav novērots	4 (16%)	3 (12%)
Histoloģiski operācijas materiālā audzēja pilna remisija netika konstatēta		

Bezrecidīva dzīvildze slimnieceīm ar lokāli izplatītu krūts vēzi

Pēc ārstēšanas beigām visas pacientes tika aktīvi novērotas dinamiskā atbilstoši starptautiskām vadlīnijām. Iegūtie dati par lokālu recidīvu vai attālām metastāzēm fiksēti stacionāra slimības vēsturēs vai ambulatorās kartēs, kā arī novērojuma kartēs.

Pirmais rezultātu apkopojums veikts sešus gadus pēc pētījuma sākšanas.

Attālas metastāzes konstatētas 101 slimniecei no 220 (45,9%) pirmās un kontrolgrupas dalībniecēm (sk. 2. tab.).

2. tabula

Raksturojums atkarā no metastāžu rašanās

Metastāzes	Slimnieces		
	Neo* grupa	Kontrolgrupa	Kopā
Ir	24 (46,2%)	77 (45,8%)	101 (45,9%)
Nav	28 (53,8%)	91 (54,2%)	119 (54,1%)
	52 (100%)	168 (100%)	220 (100%)

119 slimniecēm slimības progresēšana netika novērota.

No 52 slimniecēm, kas saņēma neoadjuvantu ķīmijterapiju 1. grupā, metastāzes konstatētas 24 gadījumos (46,2%). No 168 slimniecēm, kas nesaņēma neoadjuvantu ķīmijterapiju, metastāzes novērotas 77 gadījumos (45,8%). Atšķirība nav statistiski ticama ($p > 0,05$).

Bezrecidīva dzīvildze jeb remisijas ilgums aprēķināts no radikālās operācijas līdz pirmajām metastāzēm un iedalīts grupās: 0–6 mēneši; 6–12 mēneši, 12–24 mēneši, 24–36 mēneši un > 3 gadi (sk. 3. tab.).

3. tabula

Raksturojums atkarā no remisijas ilguma

Remisijas ilgums	Slimnieces		
	Neo* grupa	Kontrolgrupa	Kopā
Nav metastāžu	28 (53,8%)	91 (54,2%)	119 (54,1%)
Līdz 6 mēnešiem	3 (5,8%)	14 (8,3%)	17 (7,7%)
6–12 mēneši	9 (17,3%)	28 (16,7%)	37 (16,8%)
12–24 mēneši	8 (15,4%)	22 (13,1%)	30 (13,6%)
24–36 mēneši	3 (5,8%)	11 (6,5%)	14 (6,4%)
> 3 gadi	1 (1,9%)	2 (1,2%)	3 (1,4%)
	52 (100%)	168 (100%)	220 (100%)

Sešus gadus bez recidīva vai metastāzēm 1. neoadjuvantās ķīmijterapijas grupā nodzīvojuši 53,8% slimnieču un kontrolgrupā 54,2% slimnieču. Statistiski ticamas atšķirības nav ($p > 0,05$).

Salīdzinot bezrecidīva dzīvildzi starp pirmās grupas slimniecēm, kas saņēma neoadjuvantu ķīmijterapiju, un kontrolgrupas dalībniecēm, līdz pusgadam bez metastāzēm nodzīvoja trīs slimnieces (5,8%) pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas un 14 slimnieces (8,3%) kontrolgrupā, 6–12 mēnešus – deviņas slimnieces (17,3%) pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas un 28 (16,7%) kontrolgrupā. Sadalījums statistiski ticami neatšķiras ($p > 0,05$).

Vērtējot terapijas efektivitāti četrus gadus pēc pētījuma sākšanas otrās grupas dalībniecēm, kas saņēma neoadjuvantu ķīmijterapiju, konstatēts, ka 14 (54%) slimnieces ir veselas, slimības recidīva vai metastāžu nav.

Šai grupā audzēja metastazēšanās pirmā gada laikā tika novērota deviņām (35%) slimniecēm.

Divas slimnieces mirušas pirmajā gadā no slimības progresēšanas.

Kopējā dzīvildze: piecu un desmit gadu dzīvildze slimniecēm ar lokāli izplatītu krūts vēzi

Visām slimniecēm analizēta kopējā dzīvildze. Pacienšu miršanas dati atkārtoti pārbaudīti Latvijas Vēža reģistrā.

Piecus gadus pēc pētījuma sākšanas dzīvas bija 23 slimnieces no pirmās neoadjuvantās ķīmijterapijas grupas, kas ir 44,2% no 52 neoadjuvanto ķīmijterapiju saņēmušām slimniecēm. Savukārt kontrolgrupā dzīvas bija 80 slimnieces no 168, kas veido 47,6% (sk. 4. tab.).

4. tabula

Raksturojums pēc piecu gadu dzīvildzes datiem

Uzskaites gads	Slimnieces		$p = 0,05$, starpība (%)	95% ticamības intervāla robežas	
	1. Neo* grupa	Kontrolgrupa		Apakšējā	Augšējā
1992	4 no 9 – dzīvas (44%)	21 no 39 – dzīva (44%)	-9,4%	-38,8	23,3
1993	4 no 8 – dzīvas (50%)	19 no 36 – dzīvas (52,8%)	-2,8%	-35,1	29,8
1994	4 no 10 – dzīvas (40%)	19 no 39 – dzīvas (48,7%)	-8,7%	-36,4	23,6
1995	4 no 11 – dzīvas (36,4%)	12 no 36 – dzīvas (33,3%)	3,0	-23,7	34,2
1996	7 no 14 – dzīvas (50%)	9 no 18 – dzīvas (50%)	0	-31,3	31,3
Kopā	23 no 52 – dzīvas (44,2%)	80 no 168 – dzīvas (47,6%)	-3,4	-18,1	12,0

* Neoadjuvantā ķīmijterapija.

No 26 neoadjuvanto ķīmijterapiju saņēmušām slimniecēm otrajā grupā piecus gadus nodzīvojušas 11 (42,3%).

Pēc Latvijas Vēža reģistra datiem, 2008. gada 1. novembrī joprojām dzīvas bija deviņas slimnieces (35%).

10 gadus un ilgāk nodzīvojusi 21 slimniece no pirmās neoadjuvantās ķīmijterapijas grupas, kas veido 40,4% no 52 grupas dalībniecēm. Savukārt kontrolgrupā 10 un vairāk gadu nodzīvojušas 66 slimnieces no 168, kas veido 39,3% (sk. 5. tab.).

5. tabula

Slimnieču raksturojums pēc desmit gadu dzīvildzes datiem

Uzskaites gads	Slimnieces		$p = 0,05$, starpība (%)	95% ticamības intervāla robežas	
	1. Neo* grupa	Kontrolgrupa		Apakšējā	Augšējā
1992	4 no 9 – dzīvas (44%)	19 no 39 – dzīvas (47,1%)	-4,3	-34,0	28,2
1993	4 no 8 – dzīvas (50%)	16 no 36 – dzīvas (44,4%)	5,6	-27,1	37,7
1994	3 no 10 – dzīvas (30%)	15 no 39 – dzīvas (38,5%)	-8,5	-33,2	24,8
1995	4 no 11 – dzīvas (36,4%)	10 no 36 – dzīvas (27,8%)	8,6	-18,1	39,3
1996	6 no 14 – dzīvas (42,9%)	6 no 18 – dzīvas (33,3%)	9,5	-21,9	38,4
Kopā	21 no 52 – dzīva (40,4%)	66 no 168 – dzīvas (39,3%)	1,1	-13,3	16,4

*Neoadjuvantā ķīmijterapija.

Molekulāro marķieru pārmaiņas pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas

Pilna imūnmorfoloģisko datu analīze veikta 15 slimniecēm no otrās neoadjuvantās ķīmijterapijas grupas (sk. 6. tab.).

6. tabula

Molekulāro marķieru imūnmorfoloģiskās analīzes rezultāti ($n = 15$)

Slimnieces kārtas nr.	ER pirms ĶT	Ki-67 pirms ĶT	ER starpība pēc ĶT	Ki-67 starpība pēc ĶT	CerbB-2	Metastāzes 1. gadā
1.	47	29	9	8	Neg.	+
2.	19	27	7	3	Neg.	-
3.	29	28	11	9	Poz.	+
4.	36	48	6	27	Neg.	-
5.	49	21	23	7	Neg.	-
6.	6	41	1	11	Poz.	+
7.	42	32	13	19	Neg.	-
8.	39	22	21	11	Poz.	-
9.	29	8	9	1	Neg.	-
10.	18	18	3	-1	Neg.	-
11.	43	29	3	18	Neg.	-
12.	19	14	1	1	Poz.	-
13.	38	38	19	23	Neg.	-
14.	49	22	10	15	Poz.	+
15.	29	31	8	8	Poz.	+

Pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas samazinājās estrogēnreceptora pozitīvo šūnu procentuālais daudzums un Ki-67 indekss. Progesteronreceptora pozitīvo šūnu procentuālais daudzums palika nemainīgs.

Sešām izmeklētām slimniececēm novērota cerbB-2 onkoproteīna pārekspressija.

Statistiski nozīmīga korelācija, nosakot Pīrsona korelācijas indeksu, bija starp ER daudzumu pirms terapijas un cerbB-2 ekspresiju. Zemāks ER līmenis korelēja ar augstāku cerbB-2 ekspresiju. Korelācijas koeficients $r = -0,54$ ($p < 0,05$) ir statistiski nozīmīgs.

Statistiski nozīmīga bija arī korelācija starp PR līmeni pirms terapijas un cerbB-2 ekspresiju. Korelācijas koeficients $r = 0,32$ ($p < 0,05$) ir statistiski nozīmīgs.

Tika analizēta arī proliferācijas indeksa Ki-67 korelācija ar cerbB-2. Proliferācijas indeksa Ki-67 korelācija ar cerbB-2 ir statistiski ticama.

Korelācijas koeficients $r = 0,27$ ($p < 0,05$) ir statistiski ticams.

Pētījumā cerbB-2 receptoru negatīviem audzējiem salīdzinājumā ar cerbB-2 receptoru pozitīviem audzējiem ER pozitīvo šūnu bija vairāk. PR pozitīvo šūnu procentuālā daudzuma un Ki-67 indeksa atšķirības bija mazākas.

No 15 slimniececēm, kam veikta pilna molekulāro marķieru analīze, piecus gadus nodzīvojušas sešas slimniececēs. To skaitā no deviņām cerbB-2 negatīvām piecas slimniececēs (55%), bet no sešām cerbB-2 pozitīvām tikai viena slimniece (16,7%). Starpība nav statistiski ticama ($p = 0,132$).

Kopš pētījuma sākšanas vairāk nekā piecus gadus dzīvo piecas slimniececēs: četras (44%) cerbB-2 negatīvas un viena (16%) cerbB-2 pozitīva slimniece ($p = 0,264$).

No sešām cerbB-2 pozitīvām slimniececēm pirmajā gadā pēc diagnozes noteikšanas mirušas trīs slimniececēs (50%), bet no deviņām cerbB-2 negatīvām – divas slimniececēs (22%).

Mazā slimnieču skaita dēļ starpība nav statistiski ticama ($p = 0,264$).

Diskusija

Klīniskā un morfoloģiskā remisija kā pirmsoperācijas ķīmijterapijas efektivitātes rādītājs

Pirmsoperācijas ķīmijterapijas nozīme lokāli izplatīta krūts vēža ārstēšanā Latvijā tiek pētīta pirmo reizi.

Visbiežāk lietotie objektīvie pirmsoperācijas ķīmijterapijas efektivitātes sākulielumi ir klīniskā un morfoloģiskā audzēja remisija, kas ietekmē gan perioda ilgumu līdz slimības progresēšanai jeb bezrecidīva dzīvildzi, gan slimnieču kopējo dzīvildzi.

Par klīnisko remisiju varēja spriest pēc krūts audzēja apjoma dinamikas. Audzēja apjoms vērtēts, krūtis fizikāli izmeklējot pirms un pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas.

Šajā pētījumā pirmajā slimnieču grupā, kas saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju bez taksāniem, pusei slimnieču audzējs samazinājās par 50% un vairāk. Pilna klīniskā remisija, kad audzēju krūtīs nevar sataustīt un izmērīt, nebija nevienai slimniecei.

Otrajā slimnieču grupā, kas saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju ar taksāniem, klīniskie rezultāti bija labāki. Vienai slimniecei (4%) klīniski novērota pilna remisija, bet 16 (62,2%) slimniecēm audzējs samazinājās vairāk nekā par 50%.

Audzēja samazināšanās pēc pirmsoperācijas ķīmijterapijas liecina par ķīmijterapijas efektivitāti. Krūti saudzējošas operācijas netika izdarītas, balstoties, pirmkārt, uz slimnieču izvēli par labu tolaik radikālajai mastektomijai, otrkārt, sakarā ar lielu primāru krūts audzēju. Pirmajā pacienšu grupā 44 (84,6%) pacientēm audzējs atbilda T 3 izmēram.

Fizikālā izmeklēšana nav pietiekami precīza un bieži nesakrīt ar iegūto morfoloģisko remisiju, ko nosaka pēc operācijas materiāla histoloģiskās izmeklēšanas. Tādēļ objektīvākai audzēja klīniskās remisijas izvērtēšanai pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas izmantotas radioloģiskās izmeklēšanas metodes.

Šajā pētījumā ar 26 slimniecēm, kam veikta krūts mastogrāfija un ultrasonogrāfija, radioloģiskās izmeklēšanas rezultāti atšķīrās no fizikālās izmeklēšanas rezultātiem. Radioloģiski pilna remisija netika konstatēta nevienai slimniecei, bet daļēja tikai septiņām (27%) slimniecēm. Savukārt audzējs bez izmaiņām radioloģiski palika 16 (61%) slimniecēm.

Mastogrāfijas un ultrasonogrāfijas nozīme vērtēta vairākos klīniskos pētījumos, tomēr abas metodes atzītas par nepilnīgām (8, 9).

Magnētiskā rezonanse pašlaik atzīta par labāko metodi kā primārā audzēja izplatības, tā reziduālā audzēja vērtēšanai pēc terapijas (10, 11).

Šajā pētījumā tikai vienai slimniecei (1,9%) pirmajā grupā pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas bija pilna morfoloģiska remisija, kas ir sliktāks rezultāts, nekā minēts literatūrā. Otrajā slimnieču grupā, kas saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju ar taksāniem, pilna morfoloģiska remisija netika konstatēta nevienai slimniecei.

Retrospektīva klīnisko pētījumu analīze liecina par vairākiem faktoriem, kas ietekmē pilnas morfoloģiskās remisijas iegūšanu pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas, – audzēja lielums, hormonreceptoru daudzums, audzēja diferenciacijas pakāpe un histoloģiskais tips (12).

Pilnas morfoloģiskās remisijas gadījumu mazais skaits šajā pētījumā skaidrojams ar vairākiem faktoriem: iniciāli lielu audzēju, iespējami lielu hormonreceptoru pozitīvo audzēju skaitu un daiviņu tipa audzēju pārsvaru, kā arī medikamentu izvēli un nepietiekamu ķīmijterapijas kursu skaitu.

Otrajā grupā 68% slimnieču pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas ar taksāniem klīniski konstatēta audzēja samazināšanās, kas bija krietni biežāk salīdzinājumā ar slimnieču grupu, kura taksānus nelietoja. Rezultāti liecina, ka neoadjuvantā ķīmijterapija ar paklitaksela un doksorubicīna kombināciju ir daudz efektīvāka un to var lietot primārā audzēja reducēšanai.

Analizējot pētījuma rezultātus, slimniecēm pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas iegūta laba klīniskā efektivitāte un konstatēta audzēja sarūkšana.

Krūti saudzējošas operācijas netika veiktas, jo pārsvarā bija lieli krūts audzēji un to reducēja pēc ķīmijterapijas neradīja pārliecību par radikālas krūts rezekcijas iespēju. Arī slimnieces pārsvarā izvēlējās mastektomiju.

Kaut arī pilna morfoloģiskā remisija uzskatāma par stingru prognostisku faktoru, tās nozīmi nevar absolutizēt.

Pirmkārt, pilna morfoloģiska remisija, panākta pat ar visefektīvākajiem medikamentiem, nav garantija stabilam dzīvildzes pagarinājumam.

Otrkārt, pacienti pēc pilnas morfoloģiskas remisijas tomēr recidivē. Treškārt, pilnas morfoloģiskas remisijas izvērtēšanas metodes nav standartizētas (13).

Starptautiskā krūts vēža ekspertu padome iesaka neoadjuvantu ķīmijterapiju, pirmkārt, pacientēm, kurām jāsamazina audzēja izmēri, lai mastektomijas vietā veiktu krūti saudzējošu operāciju, un, otrkārt, pacientēm, kuru audzēji ekspresē marķierus, kas norāda uz augstu audzēja jutību pret ķīmijterapiju (14).

Labākā ķīmijterapijas shēma un optimālais ārstēšanas kursu skaits nav noteikts (15). Visbiežāk tiek lietota antraciklīnus saturoša ķīmijterapijas shēma un vismaz četri terapijas kursi. Taksānu pievienošana uzlabo pilnas morfoloģiskās remisijas biežumu, bet neuzlabo dzīvildzi (16, 13). Tomēr viedokļi atšķiras. Vairāki pētnieki uzskata, ka nepieciešami tikai 3–4 neoadjuvantās ķīmijterapijas kursi, turpretī citi iesaka garāku pirmsoperācijas ķīmijterapijas laiku – 6–8 kursus, lai iegūtu labāku morfoloģisko remisiju audzējā un arī paduses limfmezglos (17, 18, 19).

Molekulāro marķieru un to savstarpējās korelācijas analīze pacientēm pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas

Pirmo reizi Latvijā klīniskajā praksē dinamiskā krūts audzēja šūnās tika izvērtēti imūnmorfoloģiskie rādītāji.

Pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas ER koncentrācija un Ki-67 ekspresija audzēja šūnās mazinājās. Visizteiktākā Ki-67 indeksa redukcija bija audzējos, kuros ER līmenis pirms terapijas pārsniedza 30%. Slimniecēm ar lielu Ki-67 indeksu varētu būt lielāka jutība pret neoadjuvanto ķīmijterapiju un labāka prognoze salīdzinājumā ar slimniecēm, kurām ir mazs Ki-67 proliferācijas indekss.

Līdzīgi secinājumi par proliferācijas indeksu Ki-67 izdarīti arī citos pētījumos. Augstāks proliferācijas indekss korelē ar lielāku ķīmijterapijas efektivitāti (14).

Šajā pētījumā statistiski nozīmīga korelācija konstatēta starp hormonu receptoru līmeni un cerbB-2 ekspresiju. Zemāks ER un PR līmenis korelē ar augstāku cerbB-2 līmeni.

Citi pētnieki atraduši līdzīgu korelāciju starp cerbB-2 ekspresiju un negatīviem ER, kā arī korelāciju ar citiem nelabvēlīgiem prognostiskiem faktoriem – pozitīviem paduses limfmezgliem, p53 mutācijām un lielu kodola malignitātes pakāpi (20).

Konstatēta cerbB-2 ekspresijas nelabvēlīga ietekme uz slimības gaitu.

Četrām slimniecēm (66%) ar cerbB-2 pozitīviem receptoriem slimība progresēja jau pirmā gada laikā, bet no cerbB-2 receptornegatīvām slimniecēm tikai vienai (11%) bija progresija. Pirmajā gadā pēc diagnozes noteikšanas miruši 50% slimnieču ar cerbB-2 pozitīviem audzējiem un 22% slimnieču ar cerbB-2 negatīviem audzējiem. Mazā slimnieču skaita dēļ atšķirība nav statistiski ticama ($p = 0,264$).

Medicīnas literatūrā publicēti relatīvi nelieli pētījumi, kas norāda uz ievērojami lielāku (18–65%) pilno morfoloģisko remisiju skaitu slimniecēm ar cerbB-2

pozitīviem audzējiem, kam neoadjuvantā ķīmijterapija kombinēta ar monoklonālo antivielu trastuzumabu (15, 21). Terapijas toksicitātes pieaugums netika konstatēts. Tomēr galīgiem secinājumiem nepieciešams vairāk trešās fāzes pētījumu ar lielāku slimnieču skaitu (22).

Ņemot vērā pētījuma rezultātus un literatūrā publicētos datus, varam secināt, ka krūts vēža terapijai slimniecēm ar *cerbB-2* receptoru pārekspresiju jābūt agresīvākai nekā slimniecēm ar *cerbB-2* receptoru negatīviem audzējiem. Slimniecēm ar *cerbB-2* receptoru pārekspresiju būtu jāapsver monoklonālās antivielas trastuzumaba pievienošana neoadjuvantai ķīmijterapijai.

Slimniecēm ar *cerbB-2* receptoru negatīviem audzējiem optimāla varētu būt standarta adjuvanta terapija, bet slimniecēm ar *cerbB-2* receptoru pozitīviem audzējiem nepieciešama agresīvāka ķīmijterapija kombinācijā ar monoklonālo antivielu trastuzumabu. Līdzīgu apsvērumus izteikuši arī citi autori (23, 24).

Bezrecidīva dzīvildzes salīdzinājums pacientēm pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas un kontroles grupas pacientēm

Netika konstatētas bezrecidīva dzīvildzes atšķirības starp slimniecēm, kas saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju, un kontrolgrupas slimniecēm. Bezrecidīva dzīvildze pirmajā slimnieču grupā, kas saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju, bija 53,8%, bet kontrolgrupā – 54,2%.

Statistiski ticamas atšķirības starp grupām nav ($p > 0,05$).

Medicīnas literatūrā ir apgalvojumi, ka bezrecidīva dzīvildze uzlabojas slimniecēm, kas pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas sasniedz pilnu morfoloģisku remisiju. Ja pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas saglabājas invazīvs reziduāls audzējs, bezrecidīva dzīvildze neatšķiras no standarta grupas (22).

Tā kā šajā pētījumā tikai vienai slimniecei bija pilna morfoloģiska remisija, objektīvi vērtēt šo korelāciju nav iespējams.

Kopējās dzīvildzes salīdzinājums pacientēm pēc neoadjuvantas ķīmijterapijas un kontroles grupas pacientēm

Kopējā piecu gadu dzīvildze būtiski neatšķirās starp slimniecēm, kas saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju, un kontrolgrupas dalībniecēm. Piecu gadu dzīvildze pirmajā slimnieču grupā, kas saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju, vidēji bija 44,2%, bet kontrolgrupas slimniecēm – 47,6%. Starpība nav būtiska ($p = 0,05$).

Pārlūkojot medicīnas literatūru, kopējā piecu gadu dzīvildze pēc neoadjuvantas ķīmijterapijas sasniedz 74–100%. Šajā pētījumā iegūtie rezultāti ir ievērojami zemāki.

Lielā dzīvildzes starpība daļēji skaidrojama ar faktu, ka neoadjuvantā ķīmijterapija aizvien biežāk tiek pēģināta agrīna krūts vēža gadījumos, kad ārstēšanas rezultāti ir labāki. Tādēļ publicētie dati īsti nesaskan ar lokāli izplatīta krūts vēža ārstēšanas rezultātiem.

Cits iemesls varētu būt mazāk agresīvas neoadjuvantās ķīmijterapijas izvēle Latvijā. Lietojot antraciklīnu un taksānu kombināciju, biežāk tiek sasniegta pilna

morfoloģiska remisija, kas savukārt korelē ar ilgāku bezrecidīva periodu un garāku kopējo dzīvildzi.

Atsevišķi piecu gadu dzīvildze vērtēta sievietēm ar pozitīvu un negatīvu *cerbB-2* ekspresiju. Rezultāti krietni atšķirās: slimniecēm ar *cerbB-2* receptoru negatīvu ekspresiju piecu gadu dzīvildze bija 55%, bet slimniecēm ar pozitīvu *cerbB-2* receptoru ekspresiju tikai 16%. Statistiska ticamība netika konstatēta ($p = 0,287$). Arī daudzi literatūras dati liecina, ka *cerbB-2* ekspresija saistīta ar audzēja agresivitāti, paaugstinātu metastazēšanos un nelabvēlīgu klīnisku prognozi (25, 26, 27).

Netika konstatēta atšķirība 10 gadu dzīvildzē starp slimniecēm, kas saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju, un kontrolgrupu. 10 gadu dzīvildze neoadjuvantās ķīmijterapijas grupā vidēji bija 40,4%, kas statistiski neatšķirās no kontrolgrupas, kur vidējā 10 gadu dzīvildze bija 39,3% ($p = 0,05$).

10 gadu dzīvildze lokāli izplatīta krūts vēža slimniecēm pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas literatūrā ir mazāk atspoguļota. Andersona Vēža centrā Hjūstonā (ASV) veikts pētījums, kurā piedalījās 193 slimnieces ar lokāli izplatītu krūts vēzi, kuras saņēma neoadjuvantu ķīmijterapiju. Pēc terapijas slimnieces dinamikā novērotas vidēji 13,9 gadus. 76 no 193 ārstētām slimniecēm (39,4%) bija dzīvas un bez vēža pazīmēm.

Vidēji 10 gadu dzīvildze pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas ir 41–100%.

Lielo nejausīnāto pētījumu NSABP B-18 un NSABP B-27 rezultāti neapstiprina būtisku dzīvildzes starpību slimniecēm, kas saņēmušas vai nav saņēmušas neoadjuvanto ķīmijterapiju. Tomēr NSABP B-18 pētījumā pēc deviņu gadu novērošanas slimniecēm, kam pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas tika sasniegta pilna morfoloģiska remisija, bezrecidīva dzīvildze bija 75% gadījumu un kopējā dzīvildze 85% gadījumu, turpretī slimniecēm, kam pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas saglabājās invazīvs reziduāls audzējs, – 58 un 73% gadījumu (27).

Tika analizēta deviņu gadu dzīvildze arī 26 pacienšu grupā, kas saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju ar antraciklīnu un taksānu kombināciju, un konstatēta liela atšķirība dzīvildzē atkarībā no *cerbB-2* receptoru ekspresijas. Deviņu gadu dzīvildze pacientēm ar *cerbB-2* receptoru negatīviem audzējiem bija 44%, bet ar *cerbB-2* receptoru pozitīviem audzējiem – 6%.

Būtiski ir iegūtie rezultāti, kas liecina, ka lokāli izplatīts krūts vēzis ir heterogēna slimība un nepieciešama individuāla pieeja katrai konkrētai slimniecei. Lai gan neoadjuvantā ķīmijterapija nepagarināja kopējo dzīvildzi vairumam slimnieču salīdzinājumā ar kontrolgrupu, tomēr slimniecēm ar *cerbB-2* negatīviem audzējiem kopējās dzīvildzes prognoze ir labāka. Arī medicīnas literatūrā nav pārlicinošu datu par neoadjuvantās ķīmijterapijas pozitīvo ietekmi uz slimnieču kopējo dzīvildzi salīdzinājumā ar adjuvanto ķīmijterapiju. Tomēr slimniecēm, kam pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas sasniegta pilna morfoloģiska remisija operācijas materiālā, kā arī slimniecēm, kas ir *cerbB-2* receptoru negatīvas, ir labāka prognoze gan attiecībā uz ilgāku bezrecidīva periodu, gan kopējo dzīvildzi (28).

Secinājumi

- Pētījuma dati pirmoreiz Latvijā pierāda, ka pirmsoperācijas ķīmijterapija efektīvi (> 50%) samazina krūts audzēja lielumu un rada iespēju veikt krūti saglabājošu operāciju slimniecēm ar lokāli izplatītu krūts vēzi.
- Pirmsoperācijas ķīmijterapija slimniecēm ar lokāli izplatītu krūts vēzi nepagarina bezrecidīva dzīvildzi salīdzinājumā ar kontrolgrupas dalībniecēm, kas nesaņēma pirmsoperācijas ķīmijterapiju ($p > 0,05$).
- Pirmsoperācijas ķīmijterapija nepagarina kopējo piecu gadu un desmit gadu dzīvildzi slimniecēm ar lokāli izplatītu krūts vēzi salīdzinājumā ar kontrolgrupas dalībniecēm (attiecīgi $p = 0,05$; $p = 0,05$). Piecu gadu dzīvildze Latvijā sievietēm ar krūts vēzi pēc neoadjuvantās ķīmijterapijas ir daudz sliktāka salīdzinājumā ar attīstīto Eiropas valstu statistikas datiem.
- Šis pētījums pirmoreiz Latvijā pierāda molekulāro marķieru pārmaiņas slimniecēm ar krūts vēzi pēc pirmsoperācijas ķīmijterapijas: sievietes ar lielāku Ki-67 proliferācijas indeksu ir jutīgākas pret pirmsoperācijas ķīmijterapiju.
- Pētījuma rezultāti liecina par statistiski ticamu korelāciju starp steroīd hormonu daudzumu un cilvēka epidermālā augšanas faktora receptoru *cerbB-2*: zemāks ER un PR lielums korelē ar *cerbB-2* receptora pārekspressiju un norāda uz nelabvēlīgu slimības prognozi ($p < 0,05$; $p < 0,05$).
- Slimniecēm ar *cerbB-2* receptora pārekspressiju ir agresīvāka slimības gaita, augstāka letalitāte pirmajā gadā pēc diagnozes noteikšanas un sliktāka kopējā dzīvildze salīdzinājumā ar *cerbB-2* receptoru negatīviem audzējiem; mazā slimnieču skaita dēļ rezultāti nav statistiski ticami ($p = 0,287$).
- Pētījuma rezultāti pierāda, ka pirmsoperācijas ķīmijterapija ir efektīva lokāli izplatīta krūts vēža slimniecēm, kam nepieciešama audzēja apjoma samazināšana, lai veiktu krūti saglabājošu operāciju. Molekulāro marķieru noteikšana ļauj izvēlēties optimālu ārstēšanas taktiku slimniecēm ar lokāli izplatītu krūts vēzi.
-

Literatūra

1. Bedard P. L., Cardoso F. Recent advances in adjuvant systematic therapy for early-stage breast cancer. *Ann. Oncol.* 19 (Suppl. 5): v122–v127, 2008.
2. World Health Organisation Facts and Figures. Accessed 1 February 2007. Available: <http://www.who.int>.
3. Parkin et al. Cancer incidence in five continents, Vol. VIII. IARC Scientific Publications No. 155, Lyon, France IARC Press, 2002.
4. Ferlay J. et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann. Oncol.* 2007, 18: 581–592.
5. Hery C. et al. Quantification of changes in breast cancer incidence and mortality since 1990 in 35 countries with Caucasian-majority populations. *Annals of Oncology*, 2008, 19: 1187–1194.
6. Latvian Cancer Registry. 2001, 2003, 2005.

7. DeLena M., Zucali R., Viganotti G. et al. Combined chemotherapy-radiotherapy approach in locally advanced (T3b-T4) breast cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1978, 1: 53–9.
8. Chagpar A. B. et al. Accuracy of physical examination, ultrasonography, and mammography in predicting residual pathologic tumor size in patients treated with neoadjuvant therapy. *Ann. Surg.*, 243 (2): 257–264, 2006.
9. Colleoni et al. Preoperative systemic treatment: prediction of responsiveness. *Breast*, 12 (6): 358–54, 2003.
10. Segara D. et al. Does MRI predict pathologic tumor response in women with breast cancer undergoing preoperative chemotherapy. *J. Surg. Oncol.* 2007, 96 (6): 474–480.
11. Esserman L. et al. MRI phenotype is associated with response to doxorubicin and cyclophosphamide neoadjuvant chemotherapy in stage III breast cancer. *Ann. Surg. Oncol.*, 2001: 8(6) 549–559.
12. Hanrahan E. et al. Neoadjuvant systemic therapy for breast cancer: an overview and review of recent clinical trials. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2005, 6 (9): 1477–1499.
13. Bear H. D. et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel in patients with operable breast cancer. Nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J. Clin. Oncol.*, 2006, 24: 2019–2027.
14. Kaufmann M., von Minckwitz G. et al. Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: new perspectives 2006. *Ann Oncol* 2007, 18: 1927–1934.
15. Kaufmann M., Hortobagyi G. N., Goldhirsch A. et al. Recommendation from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. *J. Clin. Oncol.* 2006, 24: 1940–1949.
16. Green M. C. et al. Weekly paclitaxel improves pathologic complete remission in operable breast cancer when compared with paclitaxel once every 3 weeks. *J. Clin. Oncol.*, 2005, 23(25): 5983–5992.
17. Steger G. G. et al. Pathologic complete response with six compared with three cycles of neoadjuvant epirubicin plus docetaxel and granulocyte colony-stimulating factor in operable breast cancer: results of ABSCG-14. *J. Clin. Oncol.*, 2007, 25(15): 2012–2018.
18. Von Minckwitz G., Blimher J. U., Raab G. et al. In vivo chemosensitivity adapter preoperative chemotherapy in patients with early-stage breast cancer. The GEPARTRIO pilot study. *Ann. Oncol.* 2005, 16 (1): 56–63.
19. Therasse P. et al. Final results of randomized Phase III trial comparing cyclophosphamide, epirubicin and fluorouracil with a dose intensified epirubicin and cyclophosphamide + filgrastim as neoadjuvant treatment in locally advanced breast cancer: An EORTC-NCIC-SAKK multicenter study. *J. Clin. Oncol.* 2003, 21: 843–850.
20. Thor A. D., Berry D. A., Budman D. R. et al. CerbB-2, p53, and efficacy of adjuvant therapy in lymph-node positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1998, 90: 1346–1360.
21. Burstein H. J. et al. Preoperative Therapy with Trastuzumab and Paclitaxel Followed by Sequential Adjuvant Doxorubicin/Cyclophosphamide for HER2 Overexpressing Stage II or III Breast Cancer: A Pilot Study. *J. Clin. Oncol.*, 2003, 21: 46–53.
22. Eniu A. Can we tailor neoadjuvant (primary) systemic therapy for breast cancer? *Memo* 2008, vol. 1: 143–147.
23. Piccart-Gebhart M. J., Procter M., Leyland-Jones B. et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2005, 353 (16): 1659–1672.

24. Hegmane A., Vikmanis U. HER-2-neu-molekulārs marķieris ar prognostisku un predikatīvu vērtību krūts vēža gadījumā. Latvijas Universitātes Raksti, Medicīna, 2007, 712: 198–209.
25. Yamauchi H., Stearns V., Hayes D. F. When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB as a predictive factor in breast cancer. J. Clin. Oncol. 2001, vol. 19 (8), 2334–2356.
26. Piccart M. J. et al. The predictive value of HER2 in breast cancer. Oncology, 2001, 61 (Suppl. 2): 73–82.
27. Fisher B., Bryant J., Wolmark N., Mamounas E., Brown A., Fisher E. R. et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. J. Clin. Oncol. 1998, 16: 2672–2685.
28. Mauri D., Pavlidis N., Ioannidis J. P. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. J. Natl. Cancer Inst. 2005, 97: 188–194.

Summary

Patients with locally advanced primary breast cancer are a heterogeneous group with various outcomes regarding local recurrence rates and survival. Compared to patients with early breast cancer, patients with locally advanced disease are at a significantly higher risk of local recurrence and distant metastases and have a worse overall survival. Preoperative (neoadjuvant) chemotherapy has been used in the treatment of locally advanced and operable breast cancer; and has consistently produced high rates of clinical response.

The aims of this investigation were to evaluate the clinical tumor response and the impact of preoperative chemotherapy on the disease-free survival and overall survival in 78 patients with locally advanced breast cancer; and to compare these results with 168 patients in the control group, as well as to assess the prognostic and predictive value of different immunocytochemical assays in patients with locally advanced breast cancer after preoperative chemotherapy. The results demonstrated high rate (> 50%) of clinical tumor response after preoperative chemotherapy. Disease-free survival and overall survival after preoperative chemotherapy were equivalent to those in the control group. Expression of proliferation index Ki-67, human epidermal growth factor receptor 2 (c-erbB-2), and estrogen and progesterone receptors before and after preoperative chemotherapy gave us valuable information for defining subgroups of patients with different prognoses and subgroups of patients who would benefit most from such treatment.

Keywords: *preoperative (neoadjuvant) chemotherapy, molecular markers, locally advanced breast cancer.*

LATVIJAS UNIVERSITĀTES RAKSTI
750. sējums, MEDICĪNA

Latvijas Universitātes Akadēmiskais apgāds
Baznīcas ielā 5, Rīgā, LV-1010
Tālr. 67034535