

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte

Normunds Jurka

**Smēķēšanas ietekme uz hroniska iekaisuma
būtiskām pazīmēm ierosinātajās krēpās un
asinīs slimniekiem ar obstruktīvām plaušu
patoloģijām**

*The influence of smoking on induced sputum and
blood inflammation indices in patients with
obstructive lung diseases*

Promocijas darba kopsavilkums

Author's summary

Darba zinātniskais vadītājs:

Dr. hab. med., profesors

Immanuels Taivans

Rīga, 2006

Darbs veikts ar Eiropas Sociālā Fonda atbalstu



**Promocijas darbs veikts Latvijas Universitātes Medicīnas fakultātē
un Paula Stradiņa klīniskajā universitātes slimnīcā**

Oficiālie recenzenti:

**asociētais profesors, Dr. med. Jānis Sīpols,
docents, Dr. med. Alvils Krams,
profesors, Dr. hab. med. Vasīlijs Trofimovs.**

Promocijas padomes priekšsēdētāja:

profesore, Dr. hab. med. Renāte Ligere

**Aizstāvēšana notiks 2006. gada 3. maijā pulksten 12⁰⁰ Latvijas
Universitātes medicīnas, bioloģijas un farmācijas nozaru promocijas
padomes sēdē Rīgā, Raiņa bulvārī 19 LU Mazajā aulā.**

Saturs

Saturs.....	3
Saīsinājumi.....	5
Statistikas saīsinājumi.....	6
Ievads.....	7
Darba mērķis.....	8
Darba uzdevumi.....	8
Darba struktūra un apjoms.....	9
Materiāls un metodika.....	9
1. Pacienti.....	9
2. Bronhodilatācijas un bronhoprovokācijas tests.....	10
3. Krēpu ierosināšana.....	10
4. Ierosināto krēpu un asins apstrāde.....	10
5. Bioķīmiskās analīzes.....	12
5.1. Katalāzes aktivitātes noteikšana.....	12
5.2. Glutaciona peroksidāzes aktivitātes noteikšana.....	13
5.3. Substrāta oksidējamības noteikšana ar hemiluminiscences metodi.....	13
5.4. α_1 -antiproteāzes koncentrācijas noteikšana.....	13
5.5. Urīnvielas koncentrācijas noteikšana.....	14
6. Datu statistiskā analīze.....	14
6.1. Lietotie analīžu modeļi un to secība.....	14
6.2. Datu transformācija.....	15
6.2.1. Logaritmiskā transformācija.....	16
6.2.2. Kvadrātsaknes transformācija.....	17
6.2.3. Arksinusa transformācija.....	18
Rezultāti.....	19
1. Citoloģiskie raksturlielumi.....	19
1.1. Smēķēšanas izraisītās pārmaiņas krēpu citoloģiskajos raksturlielumos.....	19
1.1.1. Bronhu epitēlijšūnu skaits krēpās.....	19
1.1.2. Neitrofilie leukocīti krēpās.....	21
1.1.3. Eozinofilie leukocīti krēpās.....	22
1.1.4. Makrofāgi krēpās.....	24
1.1.5. Limfocīti krēpās.....	26
1.1.6. Bazofilie leukocīti krēpās.....	26
1.2. Smēķēšanas izraisītās pārmaiņas asins citoloģiskajos raksturlielumos.....	26
1.2.1. Neitrofilie leukocīti asinīs.....	26
1.2.1.1. Stabiņkodolainie neitrofilie leukocīti.....	26
1.2.1.2. Segmentkodolainie neitrofilie leukocīti.....	28
1.2.2. Eozinofilie leukocīti asinīs.....	30
1.2.3. Monocīti asinīs.....	30
1.2.4. Limfocīti asinīs.....	30
1.2.5. Bazofilie leukocīti asinīs.....	31
2. Bioķīmiskie raksturlielumi.....	31
2.1. Smēķēšanas izraisītās krēpu antioksidatīvā statusā pārmaiņas.....	31
2.1.1. Glutaciona peroksidāzes aktivitāte krēpās.....	31
2.1.2. Katalāzes aktivitāte krēpās.....	32
2.1.3. Krēpu substrāta oksidējamība.....	36
2.2. Smēķēšanas izraisītas asins plazmas antioksidatīvā statusa pārmaiņas.....	36
2.2.1. Glutaciona peroksidāzes aktivitāte asins plazmā.....	36

2.2.2. Asins plazmas substrāta oksidējamība.....	38
2.3. Smēķēšanas izraisītas krēpu un asins urīnvielas koncentrācijas proporcijas pārmaiņas	38
2.4. Smēķēšanas izraisītas alfa-1 antiproteāzes koncentrācijas pārmaiņas asins plazmā.....	42
3. Smēķēšanas izraisītas krēpu ierosināšanas ātruma pārmaiņas.....	44
Diskusija	45
1. Citoloģiskie raksturlielumi.....	45
1.1. Bronhu epitēlijšūnas.....	45
1.2. Neitrofilie leukocīti.....	46
1.3. Makrofāgi un monocīti	47
1.4. Eozinofīlie leukocīti.....	47
1.5. Limfocīti	48
2. Bioķīmiskie raksturlielumi.....	48
2.1. Glutaciona peroksidāze.....	48
2.2. Katalāze.....	50
2.3. Substrāta oksidējamība	52
2.4. Urīnviela	53
2.5. Alfa-1 antiproteāze.....	57
3. Krēpu ierosināšanas ātrums	59
Secinājumi.....	60
Publikāciju saraksts par darba tēmu.....	61
Pateicība.....	61

Saīsinājumi

AP-1	aktivācijas proteīns- 1
BAL	bronhoalveolārā lavāža
BW	bronhu skalojums
CAT	katalāze
D	Daltons (molekulmasas mērvienība)
DTT	ditiotreitols
ECP	eozinoilo leukocītu katjoniskais proteīns
EPO	eozinoilo leukocītu peroksidāze
FEV ₁	forsētās izelpas tilpums pirmajā sekundē
FEV ₁ %	forsētās izelpas tilpums pirmajā sekundē procentos no normas
FEV ₁ /FVC	Tifno indekss
FRC	funkcionālā atlieku kapacitāte (mierīgas izelpas beigās plaušās un elpceļos palikušās gāzes tilpums)
FVC,	forsētā vitālā kapacitāte
GM-CSF	granulocītu un makrofāgu koloniju stimulācijas faktors
GPx, eGPx	glutaciona un ekstracelulārā glutaciona peroksidāze
GSH	reducētais glutations: mazmolekulārs tripeptīds (L-γ-glutamīl-L-cisteinilglicīns)
GSSG	oksidētais glutations
h	stunda
H ₂ O	ūdens
H ₂ O ₂	ūdeņraža peroksīds
HBSS	Henksa buferēts fizioloģiskais šķidrums
HOPS	hroniska obstruktīva plaušu slimība (angliski COPD)
MEF75, MEF50, MEF25	maksimālais izelpas plūsmas ātrums 75, 50, 25 (brīdī, kad plaušās atlicis 75%, 50% un 25% izelpojamā gaisa)
min	minūte
ml	mililitrs
mRNS	matricas ribonukleīnskābe
NaCl	nātrija hlorīds
NF-κB	nukleārais faktors kapa B
PD ₂₀	provokācijas ierosinātāja kumulatīvā deva miligramos, kuras gadījumā FEV ₁ samazinājies par 20% pirmsiedarbības līmeņa
SOD, Cu-Zn-SOD, Mn-SOD	superoksīda dismutāzes: vara, cinka un mangāna
TLC	plaušu totālkapacitāte (gāzes tilpums plaušās un elpceļos pēc pilnas ieelpas)
TNF-α	audzēja nekrozes alfa faktors
XD	ksantīndehidrogenāzes
xg	reiz Zemes gravitācijas paātrinājums (9,81ms ²)
XO	ksantīnoksidāze
α ₁ -antitripsīns	alfa-1 antitripsīns (antiproteāze)
μM	mikromols
ε	molārās ekstinkcijas koeficients (mērvienība M ⁻¹ cm ⁻¹)
λ	gaismas viļņa garums
¹⁴ C-urea	ar oglekļa 14- izotopu iezīmēta urīnviela

^3HOH	ar ūdeņraža 3- izotopu tritiju iezīmēts ūdens
8-izo-PGF $_{2\alpha}$	izoprostāns
$^{99m}\text{Tc-DTPA}$	99.m tehnēcija izotops, kas saistīts ar dietilēntriāmīna pentacetātu

Statistikas saīsinājumi

ANCOVA	kovariācijas analīze (<i>analysis of covariance</i>)
ANOVA	dispersijas analīze (<i>analysis of variance</i>)
b_0	vienādojuma (<i>taisnes, līknes, plaknes, hiperplaknes</i>) brīvais loceklis
b_1, b_2, b_3, b_4	vienādojuma (<i>taisnes, līknes, plaknes, hiperplaknes</i>) virziena koeficients
EKASHP modelis	eksponenciālās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis (<i>exponential analysis of covariance- ANCOVA homogeneity- of- slope model</i>)
EKKA modelis	eksponenciālās klasiskās kovariācijas analīzes modelis (<i>exponential analysis of covariance- ANCOVA analysis of covariance model</i>)
GLM	vispārējais lineārais modelis (<i>general linear model</i>)
GLZ	vispārējais linearizējamais modelis (<i>general linearized model</i>)
LGKASHP modelis	logaritmiskās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis (<i>logarithmic analysis of covariance- ANCOVA homogeneity- of- slope model</i>)
LKASHP modelis	lineārās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis (<i>linear analysis of covariance- ANCOVA homogeneity- of- slope model</i>)
LKKA modelis	lineārās klasiskās kovariācijas analīzes modelis (<i>linear analysis of covariance- ANCOVA analysis of covariance model</i>)
\log_{10}	decimāllogaritms
NDA modelis	nelineārās dispersijas analīzes modelis (<i>nonlinear analysis of variance ANOVA</i>)
p	varbūtība (ka apgalvojums ir kļūdains)
PAKASHP modelis	pakāpes kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis (<i>power analysis of covariance- ANCOVA homogeneity- of- slope model</i>)
PKASHP modelis	polinomālās (paraboliskās) kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis (<i>polynomial (parabolic) analysis of covariance- ANCOVA homogeneity- of- slope model</i>)
PKKA modelis	polinomālās (paraboliskās) klasiskās kovariācijas analīzes modelis (<i>polynomial (parabolic) analysis of covariance- ANCOVA analysis of covariance model</i>)
r	korelācijas koeficients
r^2	determinācijas koeficients, kas raksturo faktora ietekmes īpatsvaru
sin	sinuss

SKASHP modelis	sinusa kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis (<i>sine analysis of covariance- ANCOVA homogeneity- of- slope model</i>)
SKKA modelis	sinuisa klasiskās kovariācijas analīzes modelis (<i>sine analysis of covariance- ANCOVA analysis of covariance model</i>)
X, Y, Z.....vai X ₁ , X ₂ , X ₃	faktors
X', Y', Z'....vai X ₁ ', X ₂ ', X ₃ '....	transformēts faktors
X _i , Y _i Z _i	novērotās variāntes
$\hat{X}_i, \hat{Y}_i, \hat{Z}_i$	aprēķinātās variāntes

Ievads

Ir zināms, ka smēķēšana ir viens no galvenajiem plaušu slimību veicinošiem faktoriem. Smēķēšanas ietekme pārsvarā pētījumu ir tikusi vērtēta starp diskrētām grupām – nesmēķējošiem un smēķējošiem veseliem cilvēkiem un slimniekiem, kas neatļauj izdarīt secinājumus par smēķēšanas kvantitatīvu ietekmi uz patoloģisku pārmaiņu attīstības gaitu. Turpretī mēs nolēmām pētīt kā smēķēšanas stāžs, izteikts pakgados, ietekmē elpceļu iekaisuma intensitāti bronhiālās astmas un HOPS slimniekiem un ar ko tas atšķiras no procesiem, kas notiek veselu cilvēku elpceļos smēķēšanas dēļ. Kā iekaisuma procesa indikatorus mēs izmantojām šūnu spektru un antioksidantu aktivitāti ierosinātās krēpās un asinss plazmā.

Tādām plaušu iekaisumslimībām kā HOPS un bronhiālā astma raksturīgs hronisks iekaisums un oksidantu un antioksidantu līdzsvara traucējums (oksidatīvs stress), kas ir galvenais šūnu bojājumu cēlonis [Rahman, 2000]. Galvenie oksidantu avoti ir šūnas: eozinofilie leukocīti, neitrofilie leukocīti, makrofāgi, bronhu epitēlijšūnas u.c., kā arī tabakas dūmi un gaisa piesārņojums [Bucala, 1996;Repine, 1997;Lenfant, 2001;Clark, 2002;Rahman, 2000]. Attīstoties oksidatīvajam stresam, var sākties lipīdu peroksidācijas ķēdes reakcija, kuras gaitā tiek bojātas šūnu membrānas un ekstracelulārais matrikss, kā arī var izdalīties izoprostāni, piemēram, 8-izo-PGF_{2α} [Wood, 2000], var aktivēties pret redukciju un oksidāciju jutīgi transkripcijas faktori- NF-kB, AP-1, kas savukārt regulē iekaisuma mediatoru, oksidantu un antioksidantu sintēzi [Rahman, 2000;Barnes, 1995;Barnes, 1996;Yu, 1998;Comhair, 2001]. Bez tam oksidanti var inaktivēt antiproteāzes, piemēram, α₁-antitripsīnu, tāpēc var veidoties proteāžu un antiproteāžu līdzsvara traucējums [Carp, 1982;Maier, 1992;Hubbard, 1987]. Šo līdzsvara traucējumu var veidot vai nu palielināta proteīnāžu izdalīšanās un aktivitāte, vai mazināta antiproteīnāžu izdalīšanās un inaktivācija [Lenfant, 2001 #1342]. Šie novērojumi ir pamatā proteāžu un antiproteāžu līdzsvara trūkuma teorijai, kur līdzsvara trūkums starp proteīnāzēm un antiproteīnāzēm izraisa plaušu destrukciju [Lenfant, 2001 #1342].

Pirmā un galvenā elpceļu epitēlija virsmas antioksidatīvās aizsardzības sistēma pret skābekļa un slāpekļa radikāļiem ir ekstracelulārā glutaciona peroksidāzes (eGPx)- glutaciona (GSH/GSSG) redukcijas un oksoksidācijas sistēma [Rahman, 2000;Comhair, 2001]. Bez GPx arī katalāze (CAT) un superoksīda dismutāze (SOD) ir nozīmīgi antioksidatīvie enzīmi [Repine, 1997]. Pašreizējie pētījumu rezultāti par antioksidatīvās aizsardzības sistēmu ir pretrunīgi. Daļā pētījumu astmas un HOPS slimniekiem novērota vājināta [Rahman, 1996;Hamulati, 1998;Kadrabova, 1996;Powell, 1994;Malmgren, 1986;Shanmugasundaram, 2001;Novak, 1991;Fenech,

1998;Rahman, 2000;Kondo, 1994;Duthie, 1991;Sahin, 2001;Casado, 1998], bet citos pastiprināta [Comhair, 2001;Filip, 1999;Tho, 1987;Smith, 1997;Toth, 1986;McCusker, 1990;Sohn, 1993] antioksidatīvās sistēmas darbība. Pārsvārā pētījumu noteikta gan plaušu, gan asins intracelulārā antioksidatīvo enzīmu aktivitāte, bet mazāk ir pētījumu, kuros būtu noteikta ekstracelulārā šo enzīmu aktivitāte. Lai vērtētu intralumināro iekaisumu un antioksidatīvo enzīmu aktivitāti elpceļos, mēs izvēlējamies nesen izstrādāto ierosināto krēpu metodi, kas vairāk atspoguļo tieši intralumināro iekaisumu [Grootendorst, 1997]. Mēs vēlējamies noteikt enzimatisko antioksidantu (GPx un CAT) aktivitāti krēpu supernatantā un plazmā.

Atšķirībā no bronhu biopsijas, bronhu skalojuma (BW) un bronhoalveolārās lavāžas (BAL), ko iegūst bronhoskopijas laikā, krēpu ierosināšana ir vienkārša, neinvazīva, viegli paciešama, ne pārāk dārga procedūra bez nozīmīgām blaknēm bronhu iekaisuma vērtēšanai astmas un HOPS slimniekiem [Pin, 1992;Maestrelli, 1995;Keatings, 1997;Grootendorst, 1997]. Krēpu ierosināšana ar hipertonusu sāls šķīdumu atzīta par drošu metodi gan veseliem cilvēkiem, gan astmas, gan HOPS slimniekiem, ja pirms sāls šķīduma inhalācijas tiek lietoti inhalējamie β_2 agonisti [Pin, 1992;Grootendorst, 1999].

Ierosināto krēpu metode ir precīza elpceļu iekaisuma vērtēšanas metode ar augstu šūnu diferenciālās skaitīšanas atkārtojamību starp pētniekiem, atkārtotu krēpu ierosināšanu ar vairāku dienu starplaiku un atsevišķiem krēpu paraugiem tādām šūnām kā eozinofīlie un neitrofilie leukocīti, makrofāgi, kā arī ar augstu bioķīmisko analīžu rezultātu atkārtojamību krēpu supernatantā [Pin, 1992;in 't Veen, 1996;Pizzichini, 1996;Ward, 1999;Spanevello, 1997]. Bet šai metodei ir zema absolūtā šūnu skaita, limfocītu un vidēja epitēlijsūnu diferenciālā skaita atkārtojamība [Pin, 1992;Pizzichini, 1996;Ward, 1999;Spanevello, 1997]. Bez tam atšķirībā no BAL un BW metodes izmantojot ierosināto krēpu metodi, iegūst daudz mazāk atšķaidītu supernatantu bioķīmiskām analīzēm. Palielināts plakanā epitēlija šūnu relatīvais skaits, kas norāda uz siekalu piejaukumu, mazina šūnu skaitīšanas atkārtojamību [Ward, 1999;Pizzichini, 1996]. Lai izvairītos no palielināta siekalu piejaukuma negatīvās ietekmes uz šūnu skaitīšanas rezultātiem un krēpu supernatantā nosakāmo enzīmu atšķaidīšanās, mēs, tāpat kā to iesaka R. Vards 1999. un E. Picikīni 1996, paraugus, kuros bija vairāk par 30% plakanā epitēlija, izslēdzām no pētījuma.

Tā kā krēpu ierosināšana ir samērā jauna metode, ir maz datu par antioksidatīvās aizsardzības sistēmas aktivitāti krēpu supernatantā astmas un HOPS slimniekiem un smēķēšanas ietekmi uz šo aktivitāti. Arī šūnu skaitīšanas dati ierosinātās krēpās bieži ir pretrunīgi. Maz pētītas arī eozinofīlā HOPS un smēķējošu astmas slimnieku ierosināto krēpu šūnu un oksidatīvā stresa saistība. Tāpēc mēs veicām krēpu ierosināšanu gan smēķētājiem ar dažādu smēķēšanas stāžu, gan nesmēķējošiem HOPS un astmas slimniekiem, veseliem nesmēķētājiem, smēķētājiem bez elpceļu obstrukcijas un noteicām krēpu šūnu diferenciālo un absolūto skaitu, asins šūnu skaitu, kopējo substrāta oksidējamību krēpu supernatantā un plazmā, GPx un katalāzes aktivitāti krēpu supernatantā un plazmā, kā arī ārējās elpošanas raksturlielumus veicot bronhodilatācijas un bronhoprovokācijas testus.

Darba mērķis

Izmantojot ierosināto krēpu metodi, novērtēt plaušu pārmaiņas, kas attīstās smēķēšanas dēļ slimniekiem ar obstruktīvām plaušu slimībām.

Darba uzdevumi

1. Analizēt citoloģisko raksturlielumu pārmaiņas ierosinātās krēpās un asinīs atkarībā no smēķēšanas stāža HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī veseliem cilvēkiem.

2. Analizēt antioksidatīvo fermentu aktivitātes un kopējās antioksidatīvās aizsardzības (substrāta oksidējamība) pārmaiņas ierosinātās krēpās un asinīs atkarībā no smēķēšanas stāža HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī veseliem cilvēkiem.
3. Analizēt sakarību starp citoloģiskiem un bioķīmiskiem raksturlielumiem (antioksidatīvo fermentu un substrāta oksidējamība) ierosinātās krēpās un asinīs.

Darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā. Darbs sastāv no ievada, literatūras apskata, materiāla un metodikas, rezultātu un diskusijas nodaļas. Bez tam darbā ir satura rādītājs, saīsinājumu rādītājs, statistikas saīsinājumu rādītājs, kopsavilkums latviešu, angļu un krievu valodās. Darbā ir 36 attēli, 4 tabulas, 30 formulas, 13 reakciju vienādojumi un literatūras sarakstā – 554 atsauces uz autoru darbiem. Kopējais lappušu skaits - 225.

Materiāls un metodika

1. Pacienti

Pavisam pētījumā tika izmeklēti 121 brīvprātīgs P. Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas pulmonoloģijas nodaļas slimnieks un vesels brīvprātīgais. Pētījumā iekļāva tikai tās personas, no kurām izdevās iegūt adekvātu krēpu paraugu (plakanais epitēlijs <30%) un pietiekamā daudzumā (vismaz 2 ml). Izmeklējamās personas tika iedalītas trīs grupās atkarībā no FEV₁/FVC%, FEV₁% reversibilitātes pēc bronhodilatācijas un bronhu reaktivitātes (sk. 1. tab.).

1. tabula. Pacientu grupu iedalījums

Grupa	FEV ₁ /FVC%	FEV ₁ % reversibilitāte	Reaktivitāte PD ₂₀ (mg)
Veseli cilvēki	≥70	<12	>4,8
HOPS slimnieki	<70	<12	>1
Astmas slimnieki	-	un/vai ≥12	un/vai ≤4,8

Pētāmo grupu raksturlielumi apkopoti 2. tabulā.

2. tabula. Pacientu grupu raksturojums (vidējais aritmētiskais ± vidējā aritmētiskā 95% reprezentācijas intervāls, minimums, maksimums)

Grupa	Skaitis	Vecums (gadi)	Smēķē (pak-gadi)	FEV ₁ % pirms bronhodilatācijas	FEV ₁ % reversibilitāte	Reaktivitāte PD ₂₀ (mg)
Veseli cilvēki	38	42,1±4,2 18-69	9,0±3,7 0-40	106,8±4,3 80,0-132,0	1,77±1,80 -17,0-+5,5	>4,8 (n=14)
HOPS slimnieki	30	56,0±5,1 19-78	22,3±5,6 0-50	55,7±9,3 17,0-102,2	4,94±1,71 -6,9-+10,7	3,17 (-1,86 +5,07) 1,76-4,82 (n=6)
Astmas slimnieki	29	40,9±5,6 19-65	5,3±3,8 0-40	77,4±8,1 29,3-118,2	18,24±4,55 -0,3-+54,8	0,34 (-0,087 +0,66) 0,000-4,82 (n=24)

Neviena pētījumā iekļautā persona pēdējo mēnesi pirms pētījuma nebija lietojusi glikokortikoidus un fosfodiesterāzes inhibitorus.

2. Bronhodilatācijas un bronhoprovokācijas tests

Visiem pacientiem iepriekšējā dienā tika veikta ārējās elpošanas pārbaude, izmantojot Master Screen spirogrāfu JAEGER MS PNEUMO (Vācija). Pacienti veica forsētas izelpas un ieelpas mēģinājumus, un, kad trīs izelpas mēģinājumu grafiki būtiski neatšķīrās, tie tika uzskatīti par adekvātiem un aprēķināts: FVC, FEV₁, FEV₁/VC%, MEF₇₅, MEF₅₀, MEF₂₅, ko arī izteica procentos no individuālās normas. Pēc tam pacientiem inhalēja β₂ agonistu (400 μg salbutamolu no dozējamā inhalatora *Ventolin*), izmantojot krājtelu BECLOMET, un pēc 15 min veica atkārtotu spirogrāfiju, no kuras tika aprēķināta FEV₁ un pārējo raksturlielumu reversibilitāte. FEV₁ reversibilitāti aprēķināja kā starpību starp FEV₁% no normas 15 min pēc β₂ agonista inhalācijas un FEV₁% no normas pirms inhalācijas.

Testam izmantoja sterilu 0,1%, 1% un 5% metaholīna šķīdumu. Preparāta dozētai inhalācijai izmantoja mūsu izstrādāto aerosola dozēšanas metodi un iekārtu, kas bija saslēgta kompleksā ar sprauslas inhalatoru AI-1 (Krievija) un krājtelu BECLOMET ar 850 ml tilpumu. Krājtelā tika uzpildīta ar aerosolu 6 s. Pēc 2 s pacientam 1-2 s laikā lika ieelpot no krājtelas un aizturēt elpu uz 3 s, pēc tam veica mierīgu izelpu. Šo ieelpas mēģinājumu veica no mierīgas izelpas līmeņa (FRC) līdz pilnas ieelpas līmenim (TLC). AI-1 inhalatora ar aerosola dozēšanas iekārtu ražīgums 6 s iesmidzināšanas režīmā, bija 13,07±0,59 mg šķidrums, no krājtelas pacientā nonākušā izsmidzinātā šķidrums- 6,87±0,31 mg. Pirms bronhoprovokācijas un 2-3 min pēc katras inhalācijas tika noteiktas un vērtētas bronhu caurlaidības pārmaiņas, spirometriski nosakot FEV₁. Ja bronhu caurejamība mazinājās būtiski, - FEV₁ nokritās vairāk nekā par 20% pirmsiedarbības līmeņa, testu pārtrauca un pacientam tika inhalēts salbutamols, izmantojot krājtelu. Par izejas FEV₁ lielumu ņēma vidējo no trim FEV₁ mērījumiem pirms šķīdinātāja inhalācijas (sk. 4. tab.).

No iegūtiem datiem, automatizēti aproksimējot, tika aprēķināta provokācijas kumulatīvā deva PD₂₀- metaholīna kumulatīvā deva miligramos, kuras gadījumā FEV₁ nokrities par 20% pirmsiedarbības līmeņa. Kumulatīvā deva tika aprēķināta tāpēc, ka metaholīnam ir kumulatīva iedarbība uz bronhu gludo muskulatūru.

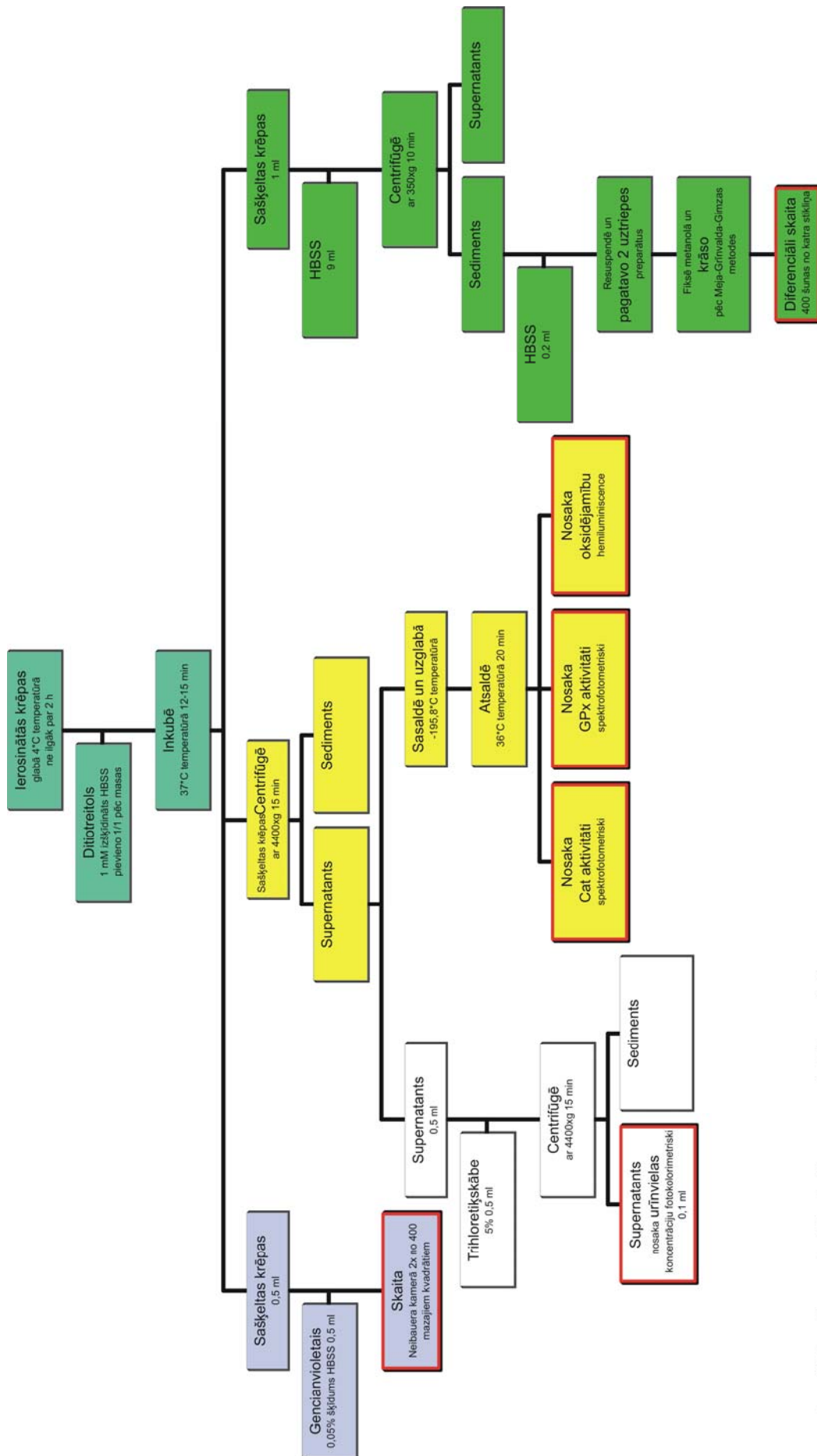
3. Krēpu ierosināšana

Krēpu ierosināšana tika veikta pēc modificētas I. Pinas 1992. g. izstrādātās metodes. Spirometriju veica pirms un 15 min pēc 400 μg salbutamola inhalācijas, izmantojot krājtelu, kā arī ik pēc 5 min hipertonskā sāls šķīduma inhalācijas laikā. Pirms katras spirometrijas lūdzām izskalot muti un kaklu, mēģināt atklepot un iesplaut krēpas trauciņā. 4% NaCl šķīdums tika inhalēts 2,5 ml/min ar ultraskaņas inhalatoru (TUR-USI 50 Vācija), kur daļiņu aerodinamiskais masas mediānas diametrs bija 5,5 μm, līdz tika iegūti 5 ml krēpu vai ierosināšanas ilgums sasniedza 30 min. Ja FEV₁ pazeminājās >20% pēc bronhodilatācijas līmeņa, krēpu ierosināšana tika pārtraukta.

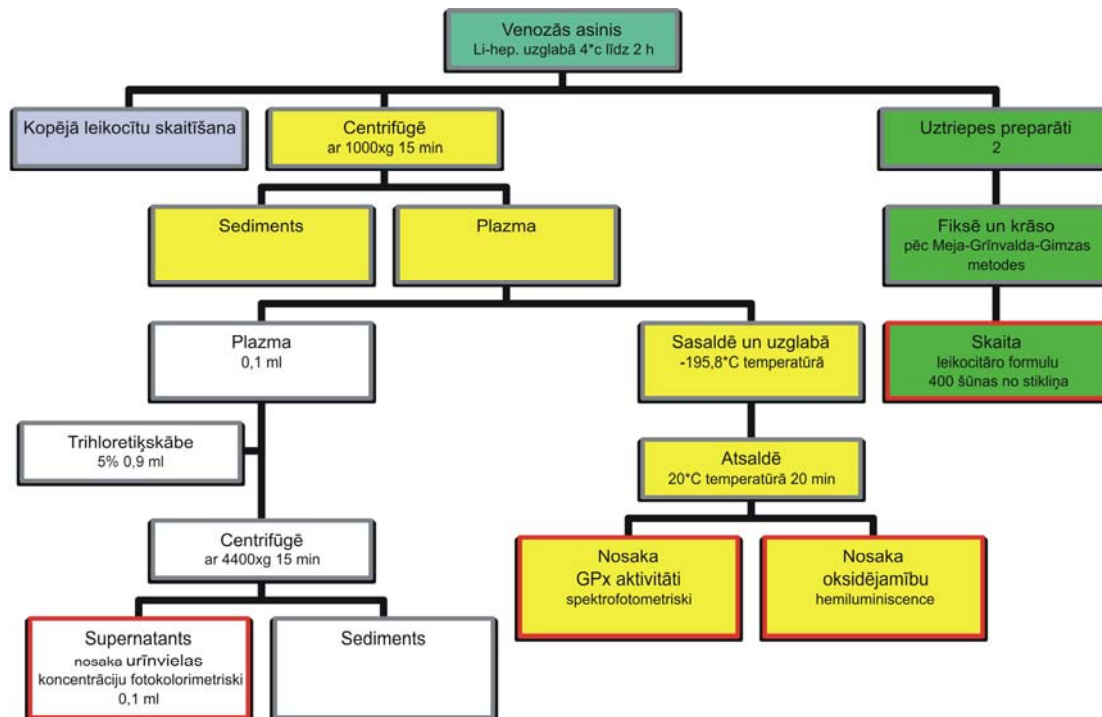
4. Ierosināto krēpu un asins apstrāde

Ierosināto krēpu apstrādes shēma redzama 1. attēlā. Diferenciālā šūnu skaitīšana notika, skaitot šūnas no diviem uztriepes preparātiem- no katra stikliņa pa 400 identificējamām kodolainām pulmonāras izcelsmes šūnām (bronhu epitēlijšūnas un leukocīti) un atsevišķi plakanā epitēlija šūnas [Pin, 1992]. Ja vidējais plakanā epitēlija daudzums uztriepes preparātos un Neibauera kamerā bija >30% paraugu uzskatīja par nederīgu sakarā ar palielinātu siekalu piejaukumu.

Asinis tika ņemtas no elkoņa vēnas pirms ēšanas, tūlīt pēc krēpu ierosināšanas izmantojot standartvakutainerus ar Li heparīnu (VENO Ject II Terumo Corporation, Beļģija). Asins apstrādes shēma redzama 2. attēlā.



1. attēls. Ierosināto krēpu apstrādes shēma.



2. attēls. Venozo asiņu apstrādes shēma.

5. Bioķīmiskās analīzes

Krēpu supernatantā noteica CAT un GPx aktivitāti, substrāta oksidējamību (S) ar hemiluminiscences metodi un urīnvielas koncentrāciju. Asins plazmā noteica glutaciona peroksīdāzes aktivitāti, substrāta oksidējamību ar hemiluminiscences metodi, α_1 -antiproteāzes un urīnvielas koncentrāciju.

5.1. Katalāzes aktivitātes noteikšana

Katalāze ir ferments, kas sadala H_2O_2 neradikālā ceļā.

1. reakcija: $2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} O_2 \uparrow + 2H_2O$.

CAT aktivitātes noteikšanas pamatā ir H_2O_2 spēja reakcijā ar molibdēna sāļiem veidot stabilu krāso produktu [Aebi, 1984], kam nosaka absorbciju. Mēs izmantojam šās metodes modifikāciju [Koroliuk, 1988]. Absorbciju noteicām spektrofotometriski $\lambda=410$ nm un aprēķinājām katalāzes aktivitāti pēc 1. formulas (katalāzes molārās ekstinkcijas koeficients $\varepsilon=22,2 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

1. formula:
$$B = \frac{(A_{an} - A_{kontrolē}) \cdot 10^6 \cdot V_1 \cdot h}{\varepsilon \cdot b \cdot V_2 \cdot t}$$

B- fermenta aktivitāte (U/l);

A_{an} - analizējamā parauga absorbcija;

$A_{kontrolē}$ - kontrolparauga absorbcija;

h- parauga atšķaidījums;

V_1 - reakcijas maisījuma kopējais tilpums (l);

V_2 - analizējamā parauga tilpums (l);

t- reakcijas laiks (min);

ε - molārās ekstinkcijas koeficients ($\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

5.2. Glutaciona peroksidāzes aktivitātes noteikšana

Glutaciona peroksidāze ir ferments, kas sadala gan H_2O_2 , gan lipīdu peroksīdus reducētā glutaciona klātienē.

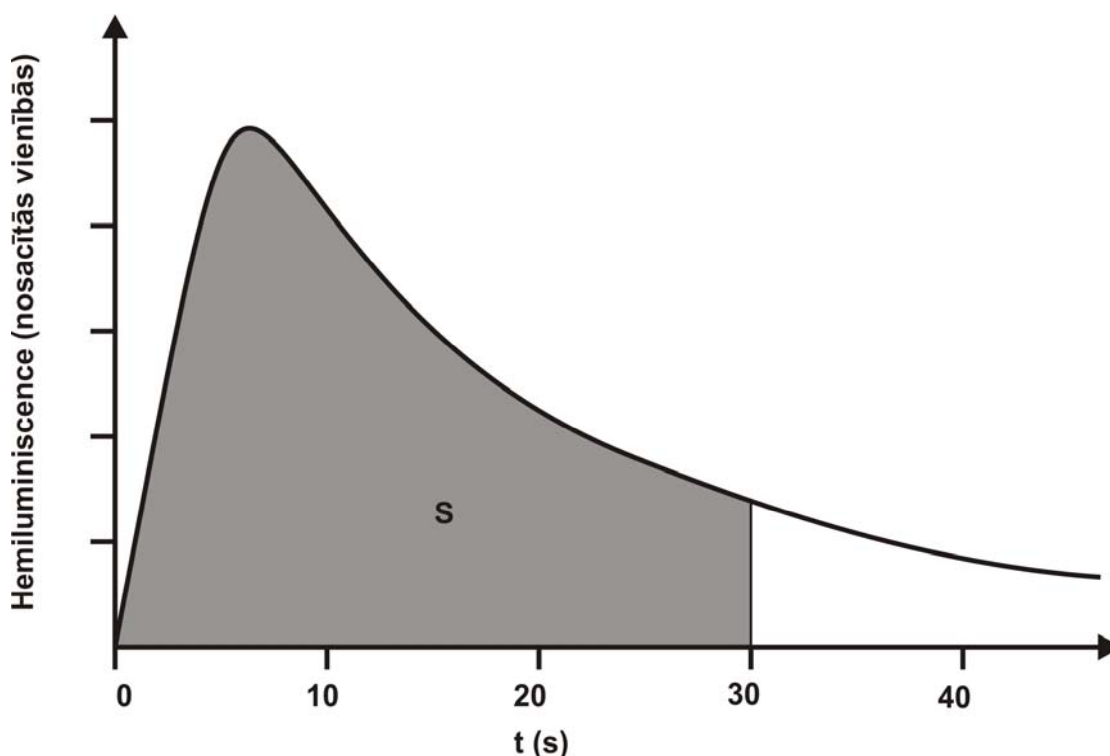
2. reakcija: $H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + 2H_2O$.

Tā aktivitāti noteicām spektrofotometriski ($\lambda=260$ nm) pēc oksidētā glutaciona daudzuma, kas veidojas reakcijas gaitā [Vlasova, 1990]. Aprēķinājām glutaciona peroksidāzes aktivitāti pēc 1. formulas (GSSG molārās ekstinkcijas koeficients $\epsilon=3,5$ $M^{-1}cm^{-1}$).

5.3. Substrāta oksidējamības noteikšana ar hemiluminiscences metodi

Luminolatkarīgā hemiluminiscence balstās uz brīvo radikāļu īpašību rekombinācijas laikā izdalīt gaismas kvantu [Semenkova, 1991]. Luminolatkarīgā hemiluminiscence tika reģistrēta, izmantojot hemiluminometru EMELITE 1105 (Krievija, BCM).

Reakcijas komponentus: paraugu (10 μ l), fosfāta buferi (2 ml 0,2 M pH=7,8), luminolu (100 μ l $1 \cdot 10^{-4}$ M) samaisa un ievieto maisāmā termostatējamā hemiluminometra kivetē (37°C temperatūrā 3 min). Hemiluminiscenci ierosinājām, pievienojot H_2O_2 (0,5 ml 0,03%) un reģistrējām hemiluminiscences līkni (30 s). Pēc līknes noteicām S (laukums zem līknes), kas raksturo substrāta oksidējamību (sk. 3. att.) [Tatsuhito, 1983]. Rezultāti tika izteikti nosacītās vienībās.



3. attēls. Luminolatkarīgās hemiluminiscences (nosacītās vienībās) atkarība no reakcijas laika (s) un laukums zem līknes (S), kas raksturo substrāta oksidējamību.

5.4. α_1 -antiproteāzes koncentrācijas noteikšana

α_1 -antiproteāzes koncentrāciju noteica imūnturbidimetriski, izmantojot analizatoru "COBAS E MIRA"/ ROCHE;I Nr...-001/. Metode balstās uz spēju cilvēka α_1 -antiproteāzei veidot precipitātu ar specifisku antiserumu, un to mērī turbidimetriski

$\lambda=340$ nm (“DAKO” firmas instrukcija α_1 -antiproteāzes noteikšanai; Zawta,. 1996; Friedman 1989; Wallach 1992).

Reaģents: firmas “DAKO” R1 5 ml anti- α_1 -antiproteāzes T antiserums (truša) 0,1 M NaCl, kas stabilizēts ar 15 mM nātrija azīda. Kalibrators “DAKO” human serum protein calibrator. Standartizācija ar CRM 470/ IFCC/ BCR/ CAP referens. Kvalitātes kontrole “ROCHE” serum protein T control. Mērījumu robežas: 0,3- 7,0 g/l.

5.5. Urīnvielas koncentrācijas noteikšana

Metode balstās uz urīnvielas spēju skābā vidē tiosemikarbazīda un Fe^{3+} jonu klātienē, reaģējot ar diacetilmonoksīmu, veidot sarkanās krāsas kompleksu, ko var noteikt fotokolorimetriski (Crocker 1967; Breinek 1970; Chromy V).

Urīnvielas koncentrācijas noteikšanai izmantoja LACHEMA. a/s BIO-LATEST “Urea 450” reaģentu komplektu un SF-46 LOMO (Krievija) fotokolorimetru. Tāpat kā paraugu, arī standarta urīnvielas šķīdumu (16,65 $\mu\text{M/l}$) atšķaidīja attiecībā 1/10 ar trihloretiķskābi. Nosaka absorbciju (kolorimetriski $\lambda=490$ - 540 nm). Aprēķina urīnvielas koncentrāciju paraugā pēc 2. formulas.

2. formula:
$$C_p = \frac{C_s \cdot A_p \cdot h_p}{A_s \cdot h_s} .$$

C_p - urīnvielas koncentrācija paraugā (mM/l)

C_s - urīnvielas koncentrācija standartā (16,65 mM/l)

A_p - parauga absorbcija;

A_s - standarta absorbcija;

h_p - parauga atšķaidījums;

h_s - standarta atšķaidījums.

6. Datu statistiskā analīze

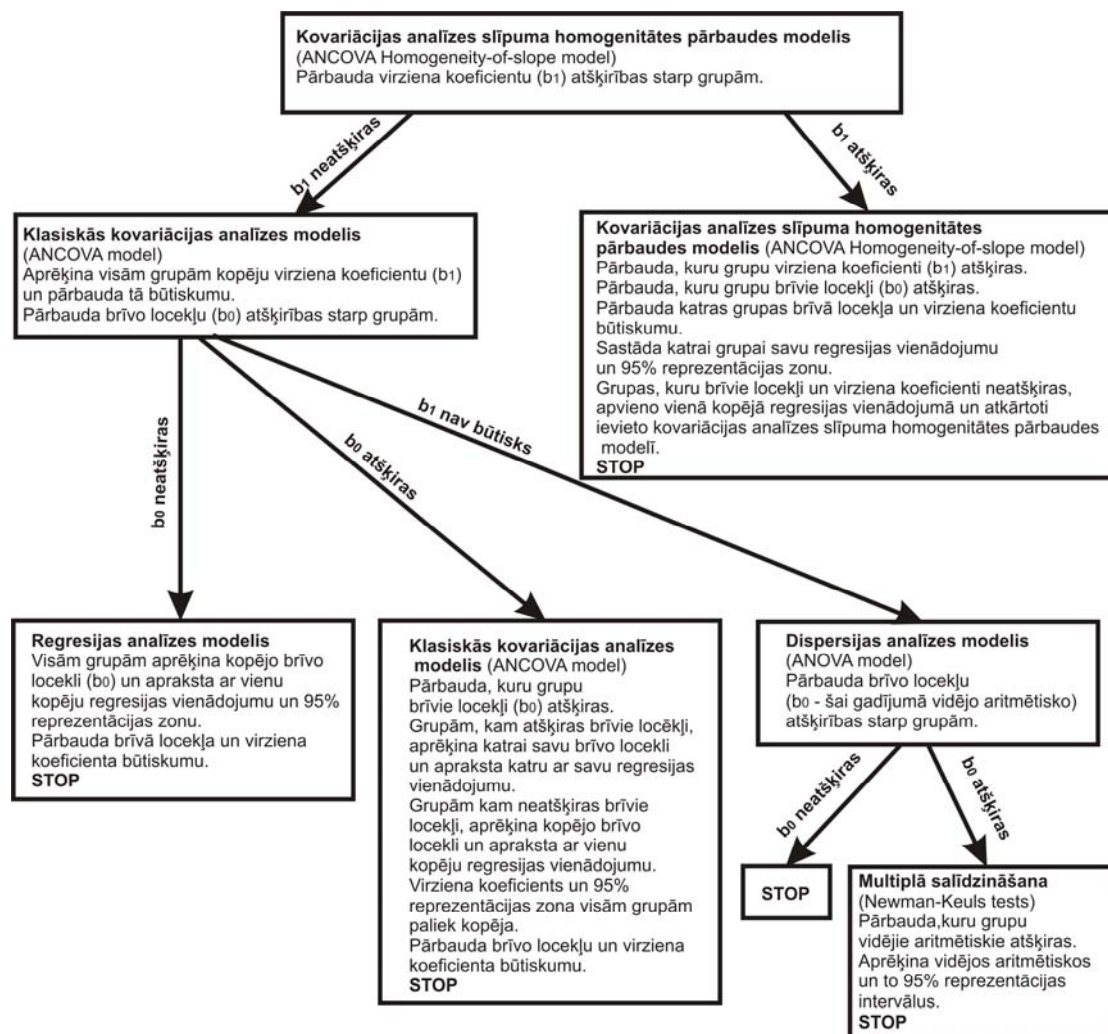
6.1. Lietotie analīžu modeļi un to secība

Datu statistiskai analīzei izmantoja datorprogrammas “**Statistica 6.0**” apakšnodaļas: “Vispārējais lineārais modelis” (general linear models- GLM) un “Vispārējais linearizējamais modelis” (general linearized models- GLZ). Sākumā katrai slimnieku grupai atsevišķi starp interesējošo atkarīgo faktoru un pēc kārtas katru neatkarīgo faktoru veica vienfaktora regresijas analīzi, vienlaikus vizualizējot grafikā.

Pēc tam neatkarīgos faktoros, kam bija kaut neliela ietekmes tendence uz atkarīgo faktoru, pakāpeniski ievietoja kopējā modelī. Sākumā izveidoja vairākfaktoru (div-, trīs- utt.) kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modeli (analysis of covariance- ANCOVA homogeneity- of- slope model), kur viens no neatkarīgajiem faktoriem ir diskrētais (categorical predictor) kvalitatīvais faktors “Diagnoze” ar trim klasēm “Vesels”, “HOPS”, “Astma”, bet pārējie neatkarīgie faktori ir nepārtrauktie kvantitatīvie (continuous predictors) faktori: “Smēķēšanas anamnēze” u.c. Izveidotajam modelim ar Fišera kritēriju pārbaudīja visu neatkarīgo faktoru un to mijiedarbību ietekmes būtiskumu uz pētīto atkarīgo faktoru. Nebūtiskie faktori vai to mijiedarbības tika izslēgtas no modeļa, un izveidots jauns modelis [360.-376. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999., 266.-293. lpp., I. Liepa Biometrija 1974] (sk. 4. att.).

Bez tam, ja modelis ietvēra vairāk par vienu neatkarīgo nepārtraukto kvantitatīvo faktoru, tika pārbaudīts, vai nav savstarpēja korelācija starp nepārtrauktajiem neatkarīgajiem faktoriem, kas iekļauti vienā modelī (multicollinearity vai intercorrelation, vai non- orthogonality). Ja tika novērota būtiska savstarpēja korelācija starp neatkarīgajiem faktoriem, veidoja divus vai vairāk

atsevišķus modeļus, kurā katrā bija tikai viens no savstarpēji saistītajiem neatkarīgajiem faktoriem [425.-426. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].



4. attēls. Statistiskās analīzes principiālā shēma divfaktoru analīzei (divu neatkarīgo faktoru: viena diskretā, otra nepārtrauktā). Pēc līdzīga principa statistisko analīzi veica arī trīs- un četrfaktoru analīzes gadījumā. Modificēta [J. H. Zar Biostatistical analysis 1999. 361. lpp.] shēma.

Ja kāda atkarīgā faktora variānte Y_i modelī atradās trīs standartnoviržu attālumā no teorētiski aprēķinātās \hat{Y}_i , šīs variāntes tika uzskatītas par rupju kļūdu, izslēgtas no aprēķiniem un aprēķini atkārtoti bez šīm variāntēm [I. Liepa Biometrija 1974., J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

6.2. Datu transformācija

Tā kā bioloģiskās sistēmās reti sakarības starp faktoriem ir lineāras, kā arī lai veiktu visas iepriekš minētās statistiskās analīzes, kas pieder pie parametrisko statistikas metožu grupas, ir prasības, lai atkarīgā faktora (Y) dati atbilstu normālajam sadalījumam, būtu ar līdzīgu dispersiju (homoscedastic) un neatkarīgo faktoru (X) ietekme uz atkarīgo (Y) būtu pieskaitoša (additive) [170. lpp. I. Liepa Biometrija 1974., 273, 353. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999.]. Ja kāds vai visi šie nosacījumi neizpildās, nepieciešama atkarīgā faktora (Y) datu transformācija. Pārsvārā gadījumu, izpildot vienu no šiem nosacījumiem, izpildās arī pārējie nosacījumi un līkne vai plakne kļūst lineāra- iztaisnojas [353. lpp. J. H. Zar

Biostatistical analysis 1999]. Turpretī, ja atkarīgā faktora (Y) dati jau atbilst iepriekš minētajiem nosacījumiem un nav jātransformē vai arī pēc transformācijas un iepriekš minēto prasību izpildes dati labāk atbilst nelineārai sakarībai (līkne, vai izliekta plakne), var veikt arī neatkarīgo faktoru datu transformāciju, kas linearizē vienādojumu, bet nemaina normalitāti un abus pārējos nosacījumus [353. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

Lai pārbaudītu atkarīgā faktora (Y) datu normalitāti, homoscedastitāti un aditivitāti, tika vērtēta Y atlikuma (atlikums- residuals, $atlikums = Y_i - \hat{Y}_i$ kur \hat{Y}_i - aprēķināts pēc modeļa vienādojuma, Y_i - reālais izmērītais) dati, to histogramma, un Y atlikuma atkarība no X.

Atkarīgā faktora (Y) atlikuma datu atbilstība normālajam sadalījumam tika vērtēta parametriiski, izmantojot asimetrijas (Skewnes) un ekscesa (Kurtosis) rādītājus un aprēķinot K^2 rādītāju, kur K^2 būtiskumu pārbauda, izmantojot χ^2 sadalījumu [67.-69., 71., 87.- 88., 115.-119. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999]. Bez tam Y atlikuma datu normalitāte tika vērtēta arī vizuāli pēc histogrammas.

Atkarīgā faktora (Y) atlikuma datu dispersiju līdzīgumu (homoscedasticity) vērtēja vizuāli pēc grafika, kur atkarīgā faktora (Y) atlikums mainās atkarībā no neatkarīgā faktora (X). Homoscedastitātes gadījumā, palielinoties X vērtībai, palielinās arī Y izkliede, [356.- 357. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999]. Bez tam, ja modelī bija iekļauts diskrētais faktors, homoscedastitāte tika vērtēta, izmantojot Bārtleta 1937. gadā izstrādāto Nagasenkerā 1984. gadā modificēto testu, kur B_c koeficienta būtiskumu pārbauda, izmantojot χ^2 sadalījumu [202.- 204. lpp. I. Liepa Biometrija 1974., J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

6.2.1. Logaritmiskā transformācija

Logaritmiskās transformācijas vienādojums attēlots 3. formulā. Atkarīgā faktora (Y) logaritmiskā transformācija tika lietota atlikuma datu dispersiju atšķirīguma gadījumā (heteroscedasticity), ja faktora atlikuma datu standartnovirze palielinājās proporcionāli neatkarīgā faktora (X) vērtībām (354. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999.), vai dispersijas analīzes gadījumā katras klases vidējā aritmētiskā standartnovirze proporcionāla šās klases vidējam aritmētiskajam [275. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999] ja neatkarīgā faktora ietekme uz atkarīgo faktoru ir multiplikatīva, nevis aditīva [275. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999], ja atkarīgā faktora (Y) atlikuma dati neatbilda normālajam sadalījumam, bet bija stipri pozitīvi asimetriski (positively skewed distribution) [275. lpp. I. Liepa Biometrija 1974., J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

3. formula: $Y' = \log_{10} Y$.

Ja Y vērtības ir mazi skaitļi un īpaši ja dažas vērtības ir vienādas ar nulli, tika lietota Bārtleta 1947. gadā ieteiktā sakarība (sk. 4. formulu) [I. Liepa Biometrija 1974., J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

4. formula: $Y' = \log_{10}(Y + 1)$.

Pēc statistiskās analīzes veikšanas regresijas vienādojumiem, to 95% reprezentācijas zonām, dispersijas analīžu klašu vidējiem aritmētiskajiem un to 95% reprezentācijas intervāliem veica pretēju transformāciju (sk. 5. un 6. formulu) 275. lpp. [Zar, 1999; Liepa, 1974].

5. formula: $Y = 10^{Y'}$.

6. formula: $Y = 10^{Y'} - 1$.

Ja logaritmiski ticis transformēts tikai atkarīgais faktors (Y) par Y' , kovariācijas vai regresijas analīzes gaitā iegūtos taisnes vienādojumus (vai analogiski

plaknes vai hiperplaknes vienādojumus) transformējot atpakaļ, iegūst **eksponentregresijas vienādojumus** (sk. 7. formulu) [246. lpp. I. Liepa Biometrija 1974].

7. formula. Eksponentregresija: $Y = b_0 b_1^X$.

Ja logaritmiski tika transformēts gan atkarīgais faktors (Y), gan neatkarīgais faktors (X) par attiecīgi (Y') un (X'), kovariācijas vai regresijas analīzēs iegūtos taisnes vienādojumus (vai analogiski plaknes vai hiperplaknes vienādojumus) transformējot atpakaļ, iegūst **pakāpes regresijas vienādojumus** (sk. 8. formulu) 245. lpp. [Liepa, 1974].

8. formula. Pakāpes regresijas vienādojums: $Y = b_0 X^{b_1}$.

Līdzīgi rīkojas arī daudzfaktoru **multiplās pakāpes regresijas** gadījumā (vairāki neatkarīgie faktori X_1, X_2, \dots, X_k), lietojot Koba-Duglasa funkciju (sk. 9. formulu) (264. lpp. I. Liepa Biometrija 1974.) [Liepa, 1974].

9. formula: $Y = b_0 X_1^{b_1} X_2^{b_2} \dots X_k^{b_k}$.

Ja logaritmiski ticis transformēts tikai neatkarīgais faktors (X) par X', kovariācijas vai regresijas analīzēs iegūtos taisnes vienādojumus (vai analogiski plaknes vai hiperplaknes vienādojumus) transformējot atpakaļ, iegūst **logaritmiskās regresijas vienādojumus** (sk. 10. formulu) [249. lpp. I. Liepa Biometrija 1974].

10. formula: $Y = b_0 + b_1 \log_{10} X$.

6.2.2. Kvadrātsaknes transformācija

Kvadrātsaknes transformācijas vienādojums attēlots 11. formulā. Atkarīgā faktora (Y) kvadrātsaknes transformācija tika lietota atlikuma datu dispersiju atšķirīguma gadījumā (heteroscedasticity), ja faktora atlikuma datu dispersija palielinājās proporcionāli neatkarīgā faktora (X) vērtībām [353. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999], vai dispersijas analīzes gadījumā- katras klases vidējā aritmētiskā dispersija proporcionāla šās klases vidējam aritmētiskajam [275. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999], ja atkarīgā faktora (Y) atlikuma dati neatbilda normālajam sadalījumam, bet atbilda Puasona sadalījumam (dati iegūti objektu vai notikumu uzskaitē, neliela asimetrija) [275. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999., 172-174. lpp. I. Liepa Biometrija 1974].

11. formula: $Y' = \sqrt{Y}$.

Ja Y vērtības ir mazi skaitļi un īpaši ja dažas vērtības ir vienādas ar nulli, tika lietota Bārtleta 1936. gadā ieteiktā sakarību (sk. 12. formulu) [I. Liepa Biometrija 1974., J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

12. formula: $Y' = \sqrt{Y + 0,5}$.

Pēc statistiskās analīzes veikšanas regresijas vienādojumiem, to 95% reprezentācijas zonām, dispersijas analīžu klašu vidējiem aritmētiskajiem un to 95% reprezentācijas intervāliem veica pretēju transformāciju (sk. 13. un 14. formulu) [276. lpp. I. Liepa Biometrija 1974., J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

13. formula: $Y = Y'^2$.

14. formula: $Y = Y'^2 - 0,5$.

Ja kvadrātsaknes transformācija tika veikta atkarīgajam faktoram (Y), transformējot par Y', kovariācijas vai regresijas analīzēs iegūtos taisnes vienādojumus (vai analogiski plaknes vai hiperplaknes vienādojumus) transformējot atpakaļ, ieguva **otrās pakāpes paraboliskās regresijas vienādojumus** (sk. 15. formulu) [235. lpp. I. Liepa Biometrija 1974].

15. formula: $Y = b_0 + b_1 X + b_2 X^2$.

Ja kvadrātsaknes transformācija tika veikta neatkarīgajam faktoram (X), transformējot par X', kovariācijas vai regresijas analīzēs iegūtos taisnes vienādojumus transformējot atpakaļ ieguva **kvadrātsaknes regresijas vienādojumu** [sk. 16. formulu].

16. formula: $Y = b_0 + b_1\sqrt{X}$.

6.2.3. Arksinusa transformācija

Arksinusa transformācijas vienādojumi attēloti 17. un 18. formulā. Atkarīgā faktora (Y) arksinusa transformācija tika elietota, ja atkarīgā faktora dati atbilda binomiālajam sadalījumam. Pēc statistikas teorijas, ja dati iegūti kā proporcija robežās no 0 līdz 1 vai izteikti procentos robežās no 0% līdz 100%, tie pārsvarā atbilst binomiālajam nekā normālajam sadalījumam [170,-174. lpp. I. Liepa Biometrija 1974., 278., 353. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999]. Šī nvirze no normalitātes ir lielāka mazu un lielu procentu gadījumā (0 - 30% un 70 - 100%) [278. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

17. formula: $Y' = \arcsin\sqrt{Y}$ proporcijai no 0 līdz 1.

18. formula: $Y' = \arcsin\sqrt{\frac{Y}{100}}$ proporcijai no 0% līdz 100%.

Pēc statistiskās analīzes veikšanas regresijas vienādojumiem, to 95% reprezentācijas zonām, dispersijas analīžu klašu vidējiem aritmētiskajiem un to 95% reprezentācijas intervāliem veica pretēju transformāciju (sk. 19. un 20. formulu) [278. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

19. formula: $Y = (\sin Y')^2$ proporcijai no 0 līdz 1.

20. formula: $Y = 100(\sin Y')^2$ proporcijai no 0% līdz 100%.

Attiecīgi, ja iegūtais taisnes vienādojumu transformējot atpakaļ, iegūst **sinusa regresijas vienādojumu** (sk. 21. formulu).

21. formula: $Y = 100(\sin(b'_0 + b'_1X))^2$.

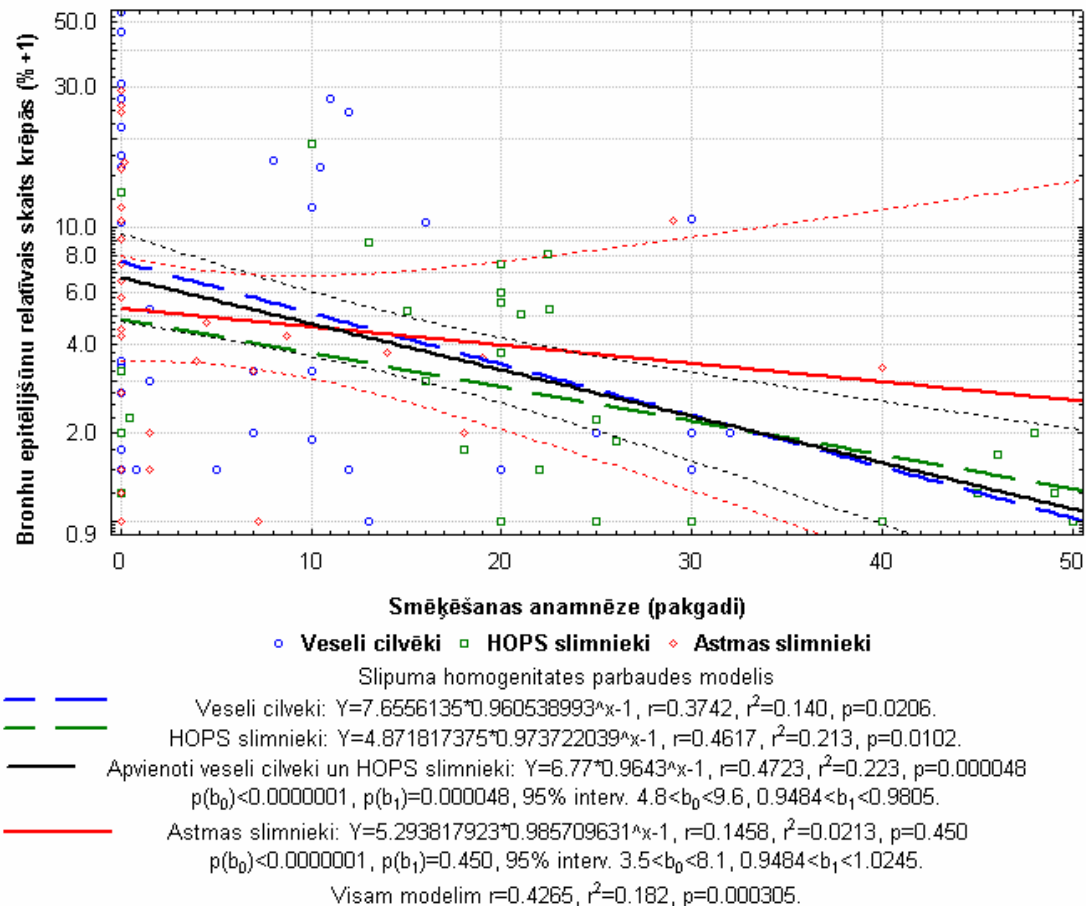
Pēc statistiskās analīzes un transformācijas veikšanas atkal tika pārbaudīta atkarīgā faktora (Y) atlikuma datu normalitāte, homoscedastitāte un aditivitāte. Ja konkrētā transformācija bija nepietiekama, tā tika aizstāta ar citu, stiprāku, vai ja transformācija bija par stipru- sadalījums kļuva pretēji asimetrisks vai ekscess pretējs-izmantoja vājāku transformāciju un statistisko analīzi atkārtoja [356. lpp. J. H. Zar Biostatistical analysis 1999].

Rezultāti

1. Citoloģiskie raksturlielumi

1.1. Smēķēšanas izraisītās pārmaiņas krēpu citoloģiskajos raksturlielos

1.1.1. Bronhu epitēlijsūnu skaits krēpās

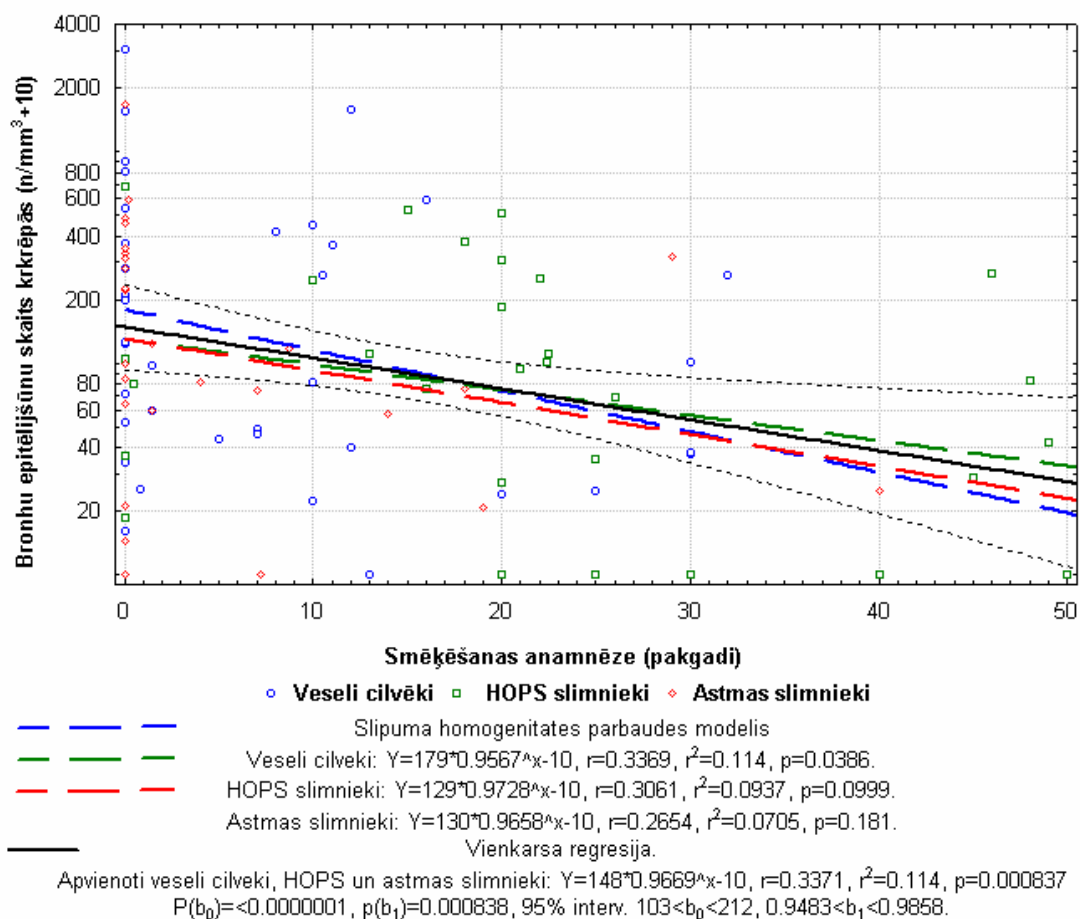


5. attēls. Smēķēšanas ietekme uz bronhu epitēlijsūnu relatīvo skaitu ierosinātās krēpās veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī veseliem cilvēkiem un HOPS slimniekiem kopā apvienotiem. Tā kā vairāku datu vērtība bija 0, lai datus varētu attēlot logaritmiskajā skalā, visiem bronhu epitēlijsūnu relatīvā skaita punktiem, kā arī līknēm, kas redzami grafikā, pieskaitīts 1. Vienādojumi aprakstīti bez vieninieka pieskaitīšanas. Ar pārtrauktām līnijām apzīmētas veselu cilvēku un HOPS slimnieku grupa pirms apvienošanas, ar nepārtrauktām līnijām- izveidotais divfaktoru eksponentiālais kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Tā kā, izmantojot divfaktoru EKASHP modeli gan veseliem cilvēkiem, gan HOPS slimniekiem novēroja būtisku bronhu epitēlija relatīvā šūnu skaita mazināšanos ierosinātās krēpās mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekmē (sk. 5. att. zila $p=0,0206$ un zaļa $p=0,0102$ pārtraukta līnija), bet nenovēroja būtiskas atšķirības starp veselo cilvēku un HOPS slimnieku regresijas vienādojumiem (gan b_0 koeficienti neatšķīrās $p=0,253$, gan b_1 koeficienti neatšķīrās $p=0,479$), matemātiski abas šīs grupas var apvienot vienā grupā (apvienotā veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupā)

un aprakstīt ar vienu regresijas vienādojumu (sk. 5. att. melnā nepārtrauktā līnija). Tāpēc var apgalvot, ka bronhu epitēlijsūnu relatīvais skaits krēpās neatšķiras **veselīem cilvēkiem** un **HOPS slimniekiem** un smēķēšanas stāžam pieaugot vienādi būtiski mazinās $r^2=22,3\%$, $r=0,472$, $p=0,000048$ (sk. 5. att. melnā nepārtrauktā līnija).

Bronhiālās astmas slimniekiem netika novērota būtiska mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekme uz bronhiālā epitēlija relatīvo šūnu skaitu krēpās (sk. 5. att. sarkanie $p=0,450$).

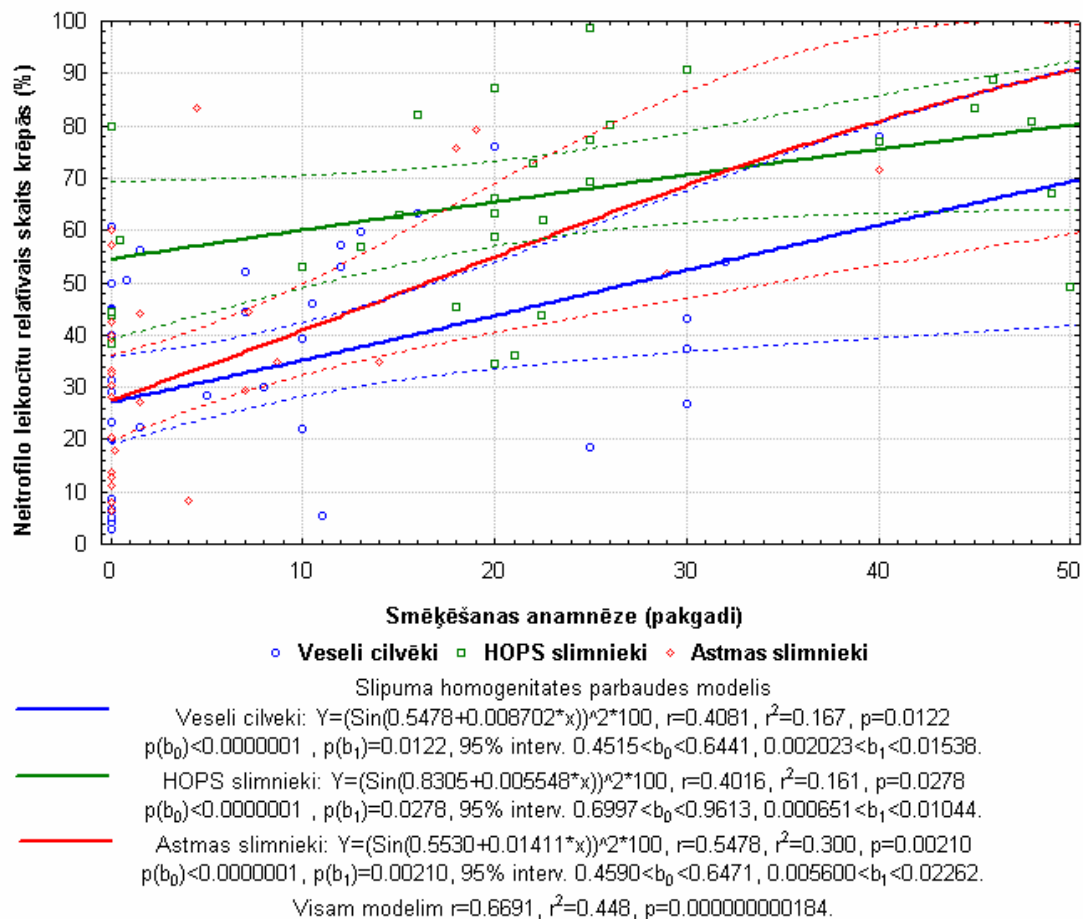


6. attēls. Smēķēšanas ietekme uz bronhu epitēlijsūnu skaitu ierosinātās krēpās veselīem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī visām trim grupām kopā. Tā kā vairāku datu vērtība bija 0, lai datus varētu attēlot logaritmiskajā skalā, visiem bronhu epitēlijsūnu skaita punktiem, kā arī līknēm, kas redzami grafikā, pieskaitīts 10. Vienādojumi aprakstīti bez 10 pieskaitīšanas. Ar pārtrauktām līnijām apzīmēts divfaktoru eksponenciālās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis, ar nepārtrauktām līnijām- vienkārša regresija visām trim grupām kopā. Ar punktētām līnijām apzīmēta regresijas 95% reprezentācijas zona.

Tā kā, izmantojot divfaktoru EKASHP modeli gan veselīem cilvēkiem, gan HOPS, gan bronhiālās astmas slimniekiem konstatēja bronhu epitēlijsūnu absolūtā skaita mazināšanos ierosinātās krēpās mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekmē (sk. 6. att. zilā, zaļā un sarkanā pārtrauktā līnija), bet nenovēroja būtiskas atšķirības starp veselo cilvēku HOPS un astmas slimnieku grupas regresijas vienādojumiem (gan b_0 koeficienti neatšķīrās, $p=0,698$, gan b_1 koeficienti neatšķīrās, $p=0,813$), visas šīs grupas matemātiski var apvienot vienā grupā (apvienotā veselo cilvēku HOPS un astmas slimnieku grupā), aprakstīt ar vienu regresijas vienādojumu (sk. 6. att. melna

nepārtraukta līnija). Tāpēc var apgalvot, ka bronhu epitēlijšūnu absolūtais skaits krēpās neatšķiras **veseliem cilvēkiem, HOPS un astmas slimniekiem** un smēķēšanas stāžam pieaugot vienādi būtiski mazinās $r^2=11,4\%$, $r=0,337$, $p=0,00084$ (sk. 6. att. melna nepārtraukta līnija).

1.1.2. Neitrofile leikocīti krēpās



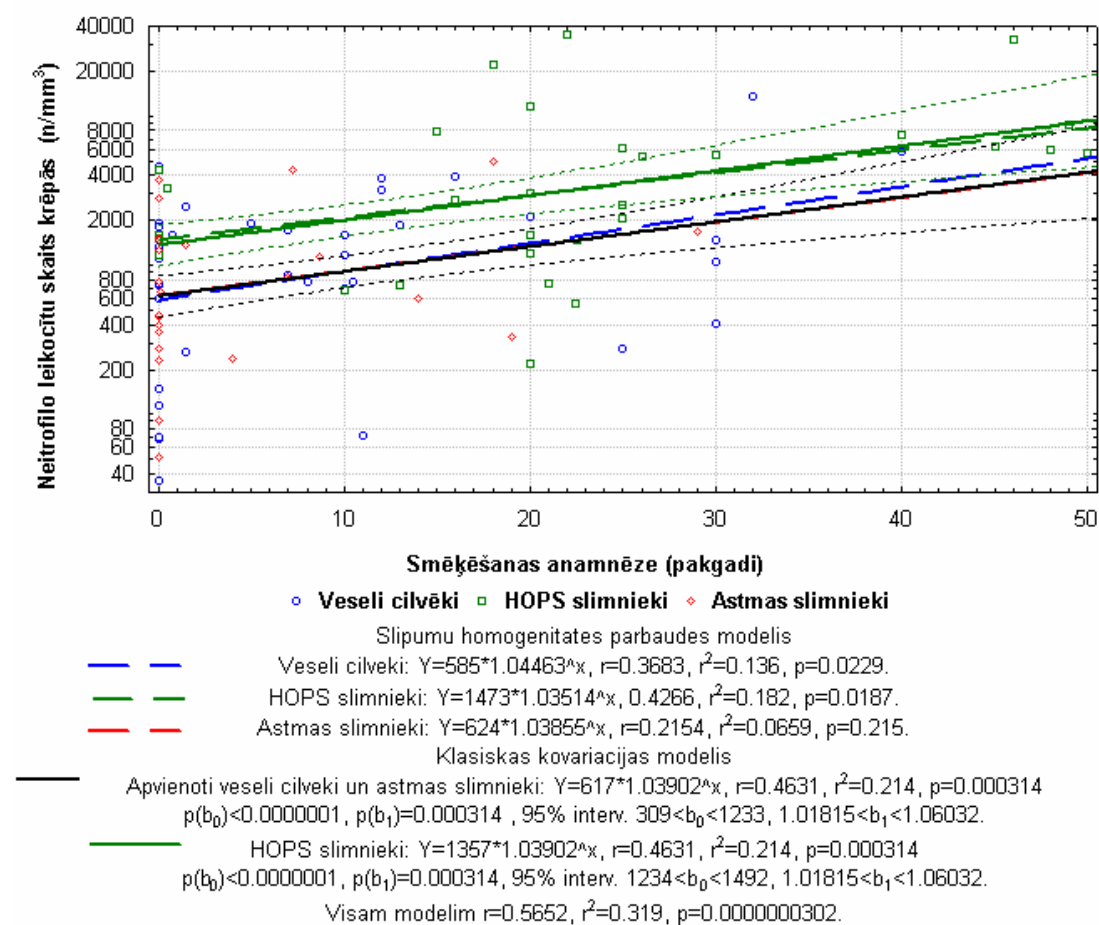
7. attēls. Smēķēšanas ietekme uz neitrofilo leikocītu relatīvo skaitu ierosinātās krēpās veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Divfaktoru sinusa kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Izmantojot divfaktoru SKASHP modeli, tika konstatēts, ka neitrofilo leikocītu relatīvais skaits krēpās HOPS slimniekiem ar mazu smēķēšanas stāžu ir būtiski lielāks nekā veseliem cilvēkiem un astmas slimniekiem ($p=0,0012$, $p=0,0011$, sk. 7. att. līknes pie 0 pakgadiem) un smēķēšanas stāžam pieaugot būtiski palielinās veseliem cilvēkiem $r^2=16,7\%$, $r=0,408$, $p=0,012$, HOPS $r^2=16,1\%$, $r=0,402$, $p=0,028$ un astmas slimniekiem $r^2=30,0\%$, $r=0,548$, $p=0,0021$. (sk. 7. att., zilā, zaļā un sarkanā līkne).

Visstraujāko neitrofilo leikocītu relatīvā skaita pieaugumu izsmēķētās tabakas daudzuma ietekmē novēroja bronhiālās astmas slimniekiem, kur šim pieaugumam ir tendence būt straujākam nekā HOPS slimniekiem ($p=0,0722$; sk. sarkanu un zaļu līkni 7. att.).

Tā kā, izmantojot divfaktoru EKASHP modeli konstatēja, ka mūžā izsmēķētās tabakas daudzums veseliem cilvēkiem, HOPS un astmas slimniekiem vienādi palielināja neitrofilo leikocītu absolūto skaitu ierosinātās krēpās, (visu grupu b_1 koeficienti neatšķīrās, $p=0,923$), divfaktoru EKASHP modeli aizstāja ar divfaktoru

EKKA modeli (visām grupām aprēķina kopējo virziena koeficientu b_1). Tā kā, izmantojot divfaktoru EKKA modeli, nenovēroja būtiskas atšķirības starp veselu cilvēku un astmas slimnieku grupu regresijas vienādojumu brīvajiem locekļiem (b_0 koeficienti būtiski neatšķīrās, $p=0,923$), vesulu cilvēku un astmas slimnieku grupas apvienoja vienā kopējā grupā un aprakstīja ar vienu kopēju regresijas vienādojumu (sk. 8. att., melnā nepārtrauktā līnija). Veicot atkārtotu analīzi izmantojot izvedoto divfaktoru EKKA modeli atklājām, ka neitrofilo leukocītu absolūtais skaits krēpās **HOPS slimniekiem** ir būtiski lielāks nekā **veseliem cilvēkiem un astmas slimniekiem** ($p=0,0103$), kuriem tas neatšķiras un smēķēšanas stāžam pieaugot būtiski palielinās visām trim grupām vienādi $r^2=21,4\%$, $r=0,463$, $p=0,00031$ (sk. 8. att., melnā un zaļā nepārtrauktā līnija).



8. attēls. Smēķēšanas ietekme uz neitrofilo leukocītu absolūto skaitu ierosinātās krēpās veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Ar pārtrauktām līnijām apzīmēts divfaktoru eksponenciālās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis, ar nepārtrauktām līnijām - divfaktoru eksponenciālās klasiskās kovariācijas modelis, bet ar punktētām līnijām - šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

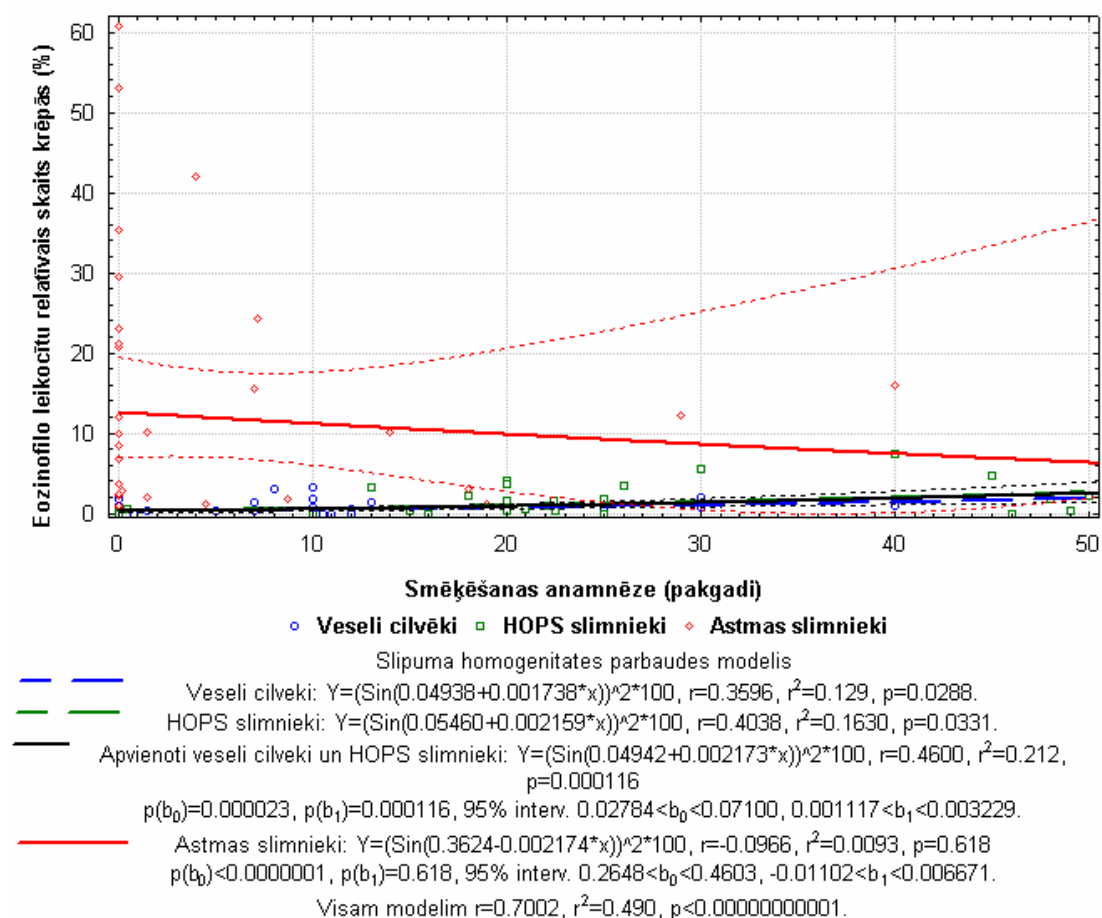
1.1.3. Eozinofīlie leukocīti krēpās

Tā kā, izmantojot divfaktoru SKASHP modeli, gan veseliem cilvēkiem, gan HOPS slimniekiem konstatēja būtisku eozinofīlo leukocītu relatīvā skaita palielināšanos ierosinātās krēpās mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekmē (sk. 9. att., zilā un zaļā pārtrauktās līnija; $p=0,0288$, $p=0,0311$), bet nenovēroja būtiskas atšķirības starp veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupu regresijas vienādojumiem (gan b_0 koeficienti neatšķīrās, $p=0,834$, gan b_1 koeficienti neatšķīrās, $p=0,736$), abas

šīs grupas tika apvienotas vienā grupā (veselu cilvēku un HOPS slimnieku) un aprakstītas ar vienu regresijas vienādojumu (sk. 9. att., melnā nepārtrauktā līnija).

Turpretī **bronhiālās astmas** slimniekiem netika konstatēta būtiska mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekme uz relatīvo eozinofilo leukocītu skaitu krēpās (sk. 9. att., sarkanā nepārtrauktā līnija, $p=0,618$).

Izmantojot divfaktoru SKASHP modeli, atklāja, ka eozinofilo leukocītu relatīvais skaits krēpās **astmas slimniekiem** ir būtiski lielāks nekā **veselīem cilvēkiem un HOPS slimniekiem**, kuriem tas neatšķiras ($p<0,0000000001$, sk. 9. att., sarkanā un melnā nepārtrauktā līnija) un smēķēšanas stāžam pieaugot vienādi būtiski pieaug **veselīem cilvēkiem un HOPS slimniekiem** ($r^2=21,2\%$, $r=0,460$, $p=0,00012$, sk. 9. att., melnā nepārtrauktā līnija).

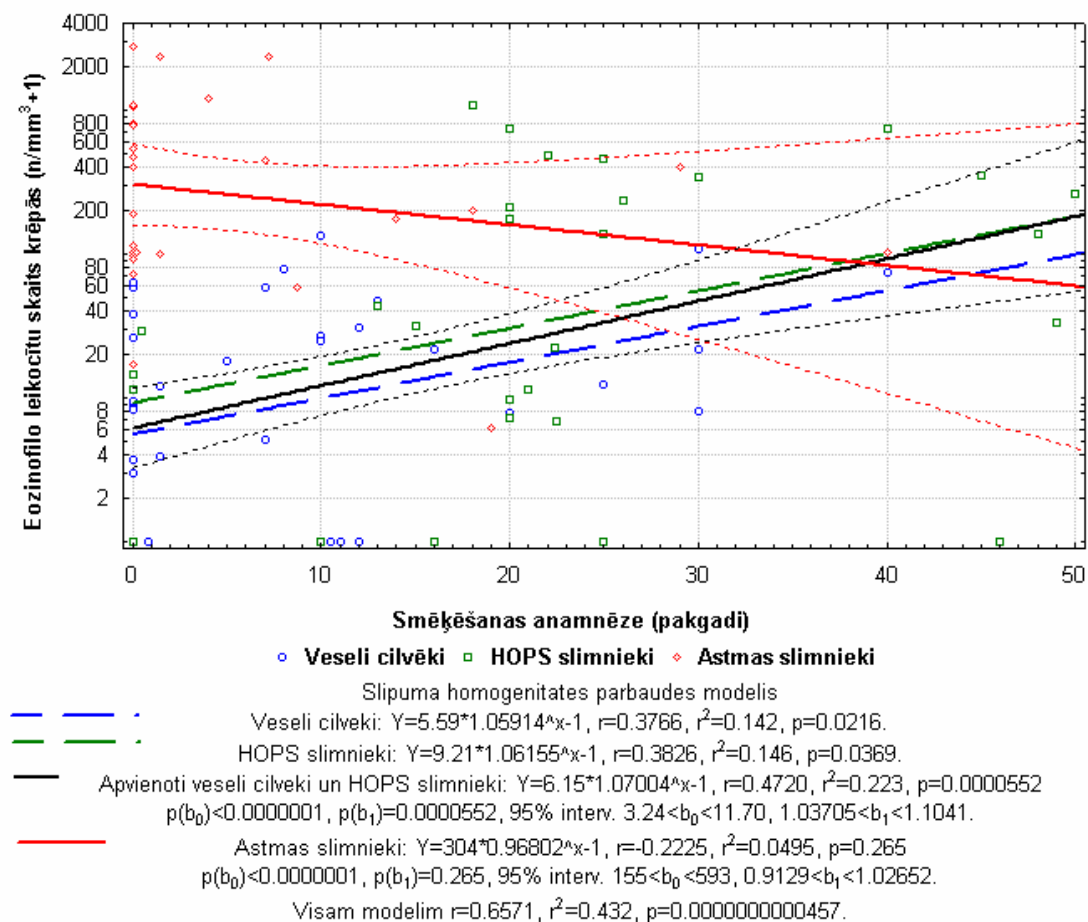


9. attēls. Smēķēšanas ietekme uz eozinofilo leukocītu relatīvo skaitu ierosinātās krēpās veselīem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī kopā apvienotiem veselīem cilvēkiem un HOPS slimniekiem. Ar pārtrauktām līnijām apzīmētas veselu cilvēku un HOPS slimnieku grupas pirms apvienošanas, ar nepārtrauktām līnijām- rezutātā izveidotais divfaktoru sinusa kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Tā kā, izmantojot divfaktoru EKASHP modeli, gan veselīem cilvēkiem, gan HOPS slimniekiem atklāja būtisku ($p=0,0216$, $p=0,0369$) eozinofilo leukocītu absolūtā skaita palielināšanos ierosinātās krēpās mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekmē (sk. 10. att., zilā un zaļā pārtrauktā līnija), bet nenovēroja būtiskas atšķirības starp veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupu regresijas vienādojumiem (gan b_0 koeficienti neatšķīrās, $p=0,496$, gan b_1 koeficienti neatšķīrās, $p=0,951$), abas šīs

grupas tika matemātiski apvienotas kopējā grupā (veselie cilvēki un HOPS slimnieki) un aprakstītas ar vienu regresijas vienādojumu (sk. 10. att., melna nepārtraukta līnija).

Turpretim **bronhiālās astmas** slimniekiem netika novērota būtiska mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekme uz absolūto eozinofilo leukocītu skaitu krēpās (sk. 10. att., sarkanā nepārtrauktā līnija, $p=0,265$).



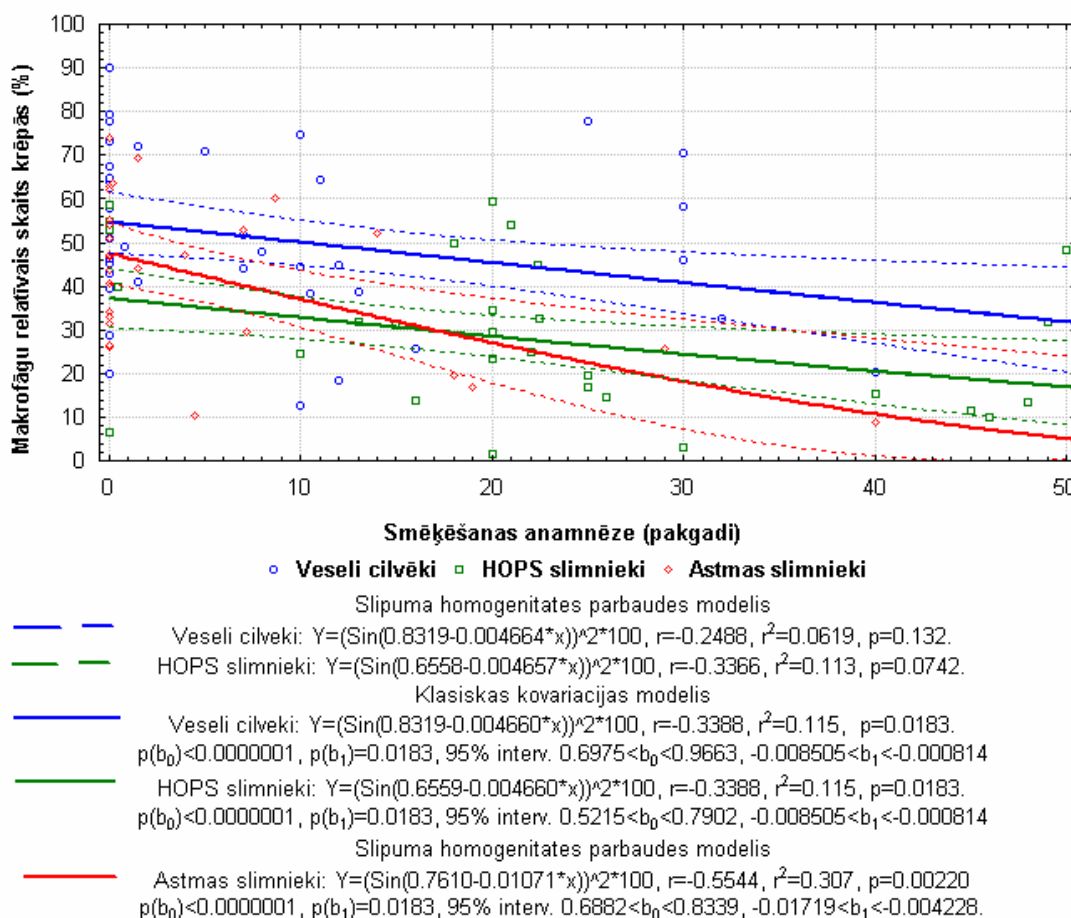
10. attēls. Smēķēšanas ietekme uz eozinofilo leukocītu absolūto skaitu ierosinātās krēpās veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī kopā apvienotiem veseliem un HOPS slimniekiem. Tā kā vairāku datu vērtība bija 0, lai datus varētu attēlot logaritmiskajā skalā, visiem eozinofilo leukocītu skaita punktiem, kā arī līknēm kas redzami grafikā, pieskaitīts 1. Vienādojumi aprakstīti bez 1 pieskaitīšanas. Ar pārtrauktām līnijām apzīmētas veselu cilvēku un HOPS slimnieku grupas pirms apvienošanas, ar nepārtrauktām līnijām- izveidotais divfaktoru eksponenciālās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Izmantojot divfaktoru EKASHP modeli, atklāja, ka eozinofilo leukocītu absolūtais skaits krēpās **astmas slimniekiem** ir būtiski lielāks nekā **veselīem cilvēkiem un HOPS slimniekiem**, kuriem tas neatšķiras ($p<0,0000000001$ sk. 10. att., sarkanā un melnā nepārtrauktā līnija) un smēķēšanas stāžam pieaugot vienādi būtiski pieaug **veselīem cilvēkiem un HOPS slimniekiem** ($r^2=22,3\%$, $r=0,472$, $p=0,000055$ sk. 10. att., melnā nepārtrauktā līnija).

1.1.4. Makrofāgi krēpās

Tā kā, izmantojot divfaktoru SKASHP modeli, gan veseliem cilvēkiem, gan HOPS slimniekiem līdzīgi mūžā izsmēķētās tabakas daudzums mazināja makrofāgu

relatīvo skaitu ierosinātās krēpās (b_1 koeficienti būtiski neatšķīrās, $p=0,999$, sk. 11. att., zilā un zaļā pārtrauktā līnija, kas pārklājas ar nepārtrauktām, ir paralēlas), divfaktoru SKASHP modelis tika aizstāts ar divfaktoru SKKA modeli (abām grupām aprēķina kopēju virziena koeficientu b_1 , sk. 11. att., zilā un zaļā nepārtrauktā līnija).



11. attēls. Smēķēšanas ietekme uz makrofāgu relatīvo skaitu ierosinātās krēpās veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Ar pārtrauktām līnijām apzīmēts divfaktoru sinusa kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis, ar nepārtrauktām līnijām- divfaktoru sinusa klasiskās kovariācijas analīzes modelis, bet ar punktētām līnijām- šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Izmantojot divfaktoru SKKA un SKASHP modeli, atklāja, ka makrofāgu relatīvais skaits krēpās **HOPS slimniekiem** ir būtiski mazāks nekā **veselīgiem cilvēkiem** ($p=0,0103$, sk. 11. att., zilā un zaļā nepārtrauktā līnija) un smēķēšanas stāžam pieaugot būtiski samazinās **HOPS slimniekiem un veseliem cilvēkiem** ($r^2=11,5\%$, $r=-0,339$, $p=0,0183$, sk. 11. att., zilā un zaļā nepārtrauktā līnija), bēt īpaši strauji samazinās – **astmas slimniekiem** ($r^2=30,7\%$, $r=-0,554$, $p=0,0022$, sk. 11. att., sarkanā nepārtrauktā līnija).

Ne **veselīgiem cilvēkiem**, ne **HOPS**, ne **bronhiālās astmas slimniekiem** mūžā izsmēķētās tabakas daudzums būtiski neietekmēja makrofāgu absolūto skaitu ierosinātās krēpās, kā arī makrofāgu absolūtais skaits būtiski neatšķīrās starp pētītajām cilvēku grupām.

1.1.5. Limfocīti krēpās

Mūžā izsmēķētās tabakas daudzums būtiski neietekmēja limfocītu relatīvo un absolūto skaitu ierosinātās krēpās nevienā no pētītajām (**veselo cilvēku, HOPS un bronhiālās astmas slimnieku**) cilvēku grupām, kā arī limfocītu relatīvais un absolūtais skaits būtiski neatšķīrās starp šīm grupām.

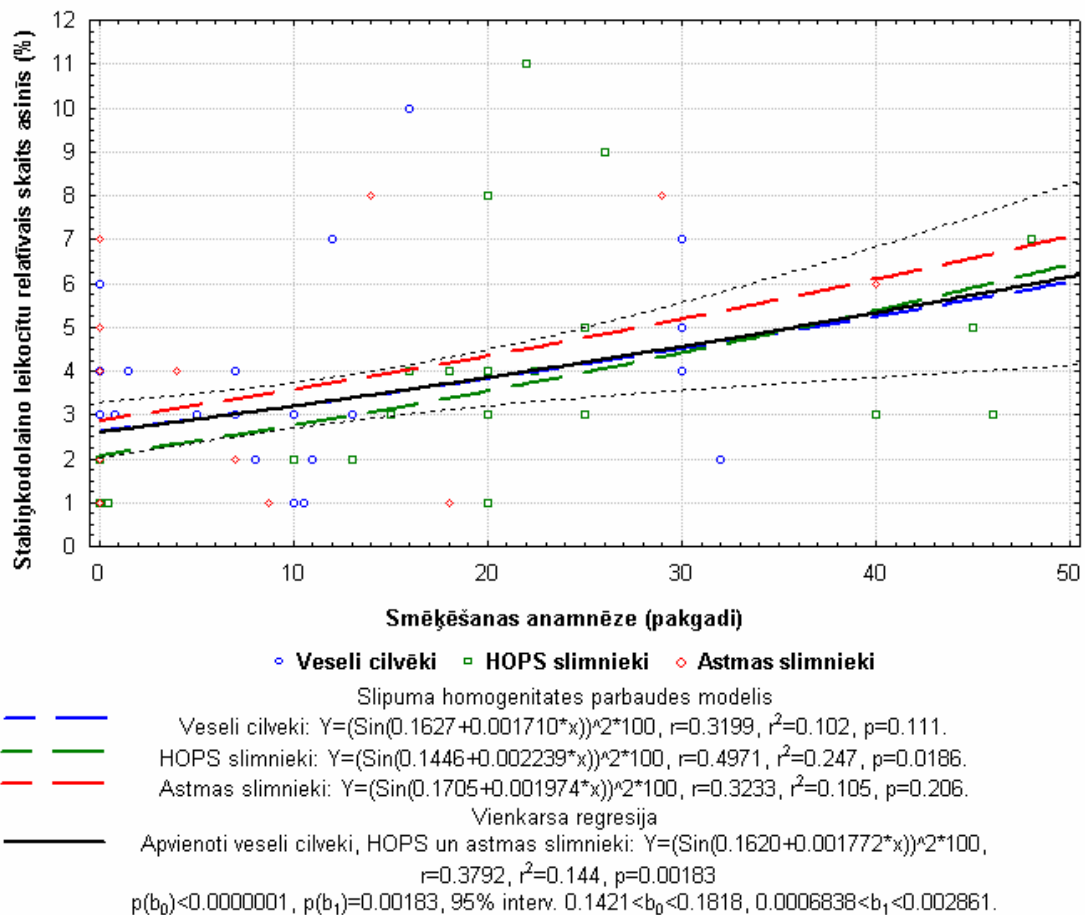
1.1.6. Bazofīlie leukocīti krēpās

Arī bazofīlo leukocītu relatīvo un absolūto skaitu ierosinātās krēpās būtiski neietekmēja mūžā izsmēķētās tabakas daudzums nevienā no pētītajām cilvēku grupām. Arī bazofīlo leukocītu relatīvais un absolūtais skaits būtiski neatšķīrās starp pētītajām **veselo cilvēku, HOPS un bronhiālās astmas slimnieku** grupām.

1.2. Smēķēšanas izraisītās pārmaiņas asins citoloģiskajos raksturlielumos

1.2.1. Neitrofilie leukocīti asinīs

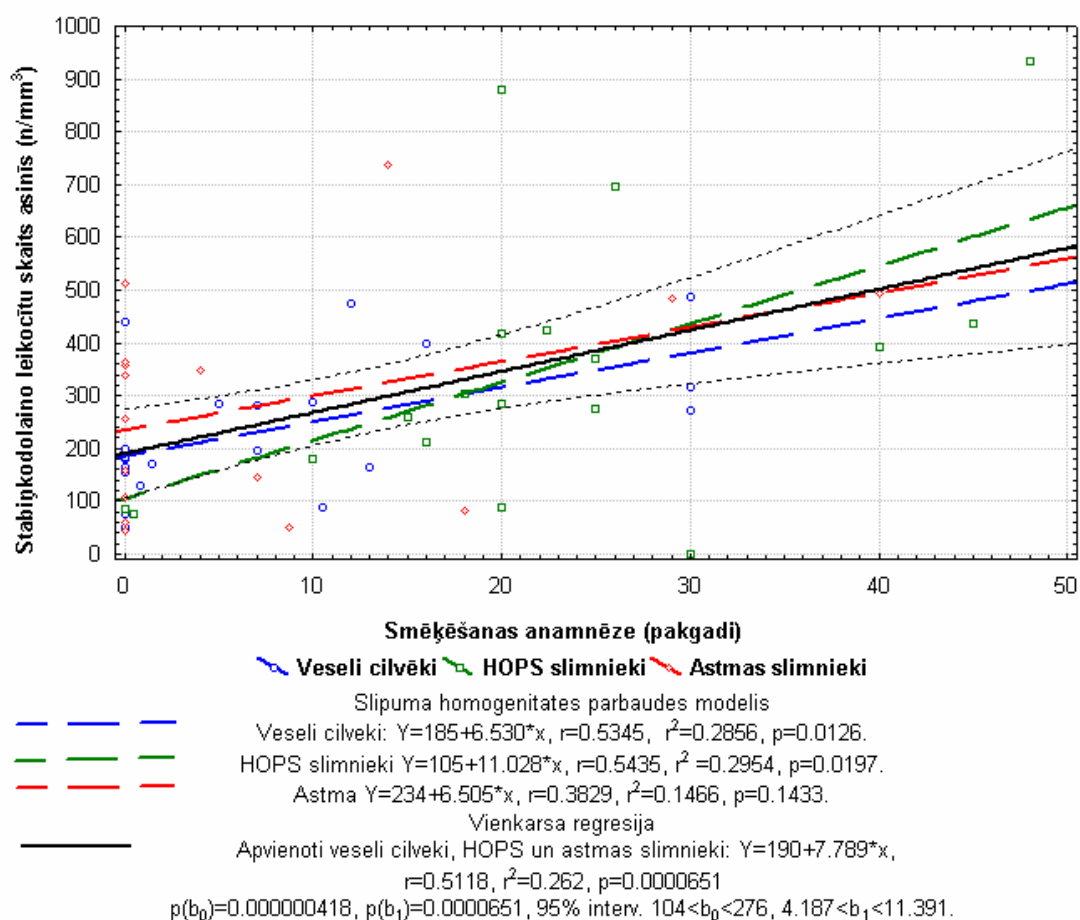
1.2.1.1. Stabiņkodolainie neitrofilie leukocīti



12. attēls. Smēķēšanas ietekme uz stabiņkodolaino leukocītu relatīvo skaitu venozajās asinīs veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī visām trim grupām apvienotām vienā grupā. Ar pārtrauktām līnijām apzīmēts divfaktoru sinusa kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis, ar nepārtrauktu līniju- vienkārša vienfaktora sinusa regresija visām trim kopā apvienotām grupām. Ar punktētām līnijām apzīmēta regresijas 95% reprezentācijas zona.

Tā kā, izmantojot divfaktoru SKASHP modeli visām trim pētītajām veselo cilvēku, HOPS un bronhiālās astmas slimnieku grupām novēroja stabiņkodolaino

leikocītu relatīvā skaita palielināšanos venozajās asinīs mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekmē (sk. 12. att., zilā, zaļā un sarkanā pārtrauktā līnija), bet nekonstatēja būtiskas atšķirības starp modelī ietilpstošajiem veselo cilvēku, HOPS un astmas slimnieku grupu regresijas vienādojumiem (neatšķirās ne b_0 , $p=0,660$, ne b_1 , $p=0,935$ koeficienti), visas šīs grupas matemātiski var apvienot vienā grupā (apvienotā veselo cilvēku, HOPS un astmas slimnieku grupā) un aprakstīt ar vienu vienfaktora sinusa regresijas vienādojumu (sk. 12. att., melnā nepārtrauktā līnija). Tāpēc var apgalvot, ka stabiņkodolaino leikocītu relatīvais skaits asinīs neatšķiras visām trim grupām (veselu cilvēku, HOPS un astmas slimnieku) un smēķēšanas stāžam pieaugot visām grupām vienādi būtiski pieaug (relatīvais $r^2=14,4\%$, $r=0,379$, $p=0,0018$, sk. 12. att., melnā nepārtrauktā līnija).



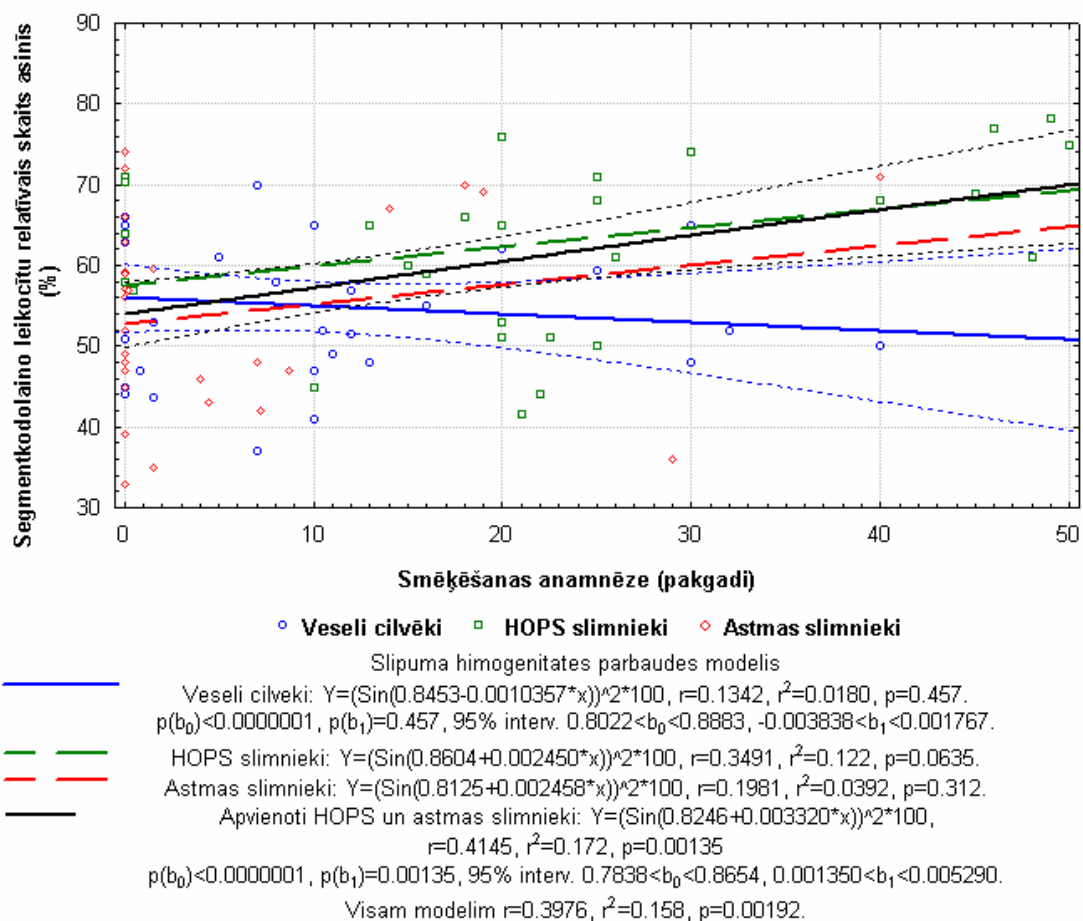
13. attēls. Smēķēšanas ietekme uz stabiņkodolaino leikocītu absolūto skaitu venozajās asinīs veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī visām trīs grupām apvienotām vienā grupā. Ar pārtrauktām līnijām apzīmēts divfaktoru lineārās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis, ar nepārtrauktu līniju- vienkārša vienfaktora lineārā regresija visām trim kopā apvienotām grupām. Ar punktētām līnijām apzīmēta regresijas 95% reprezentācijas zona.

Tā kā, izmantojot divfaktoru LKASHP modeli, gan veseliem cilvēkiem, gan HOPS, gan bronhiālās astmas slimniekiem novēroja asins stabiņkodolaino leikocītu absolūtā skaita palielināšanos mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekmē (sk. 13. att., zilā, zaļā un sarkanā pārtrauktā līnija), bet nenovēroja būtiskas atšķirības starp modelī ietilpstošajiem veselo cilvēku, HOPS un astmas slimnieku grupu regresijas vienādojumiem (neatšķirās ne b_0 , $p=0,445$, ne b_1 , $p=0,588$ koeficienti), visas šīs

grupas matemātiski var apvienot vienā grupā (apvienotā veselo cilvēku, HOPS un astmas slimnieku grupā) un aprakstīt ar vienu vienfaktora lineāro regresijas vienādojumu (sk. 13. att., melnā nepārtrauktā līnija). Tāpēc var apgalvot, ka stabiņkodolaino leukocītu absolūtais skaits asinīs neatšķiras visām trim grupām (veselu cilvēku, HOPS un astmas slimnieku) un smēķēšanas stāžam pieaugot visām grupām vienādi būtiski pieaug (absolūtais $r^2=26,2\%$, $r=0,512$, $p=0,000065$, sk. 13. att., melnā nepārtrauktā līnija).

1.2.1.2. Segmentkodolainie neitrofilie leukocīti

Tā kā, izmantojot divfaktoru SKASHP modeli gan HOPS, gan bronhiālās astmas slimniekiem konstatēja asins segmentkodolaino neitrofilo leukocītu relatīvā skaita palielināšanos mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekmē (sk. 14. att., zaļā un sarkanā pārtrauktā līnija), bet nenovēroja būtiskas atšķirības starp HOPS un astmas slimnieku grupu regresijas vienādojumiem (gan b_0 koeficienti neatšķīrās, $p=0,292$, gan b_1 koeficienti neatšķīrās, $p=0,997$), matemātiski abas šīs grupas var apvienot vienā grupā (HOPS un astmas slimnieku grupā) un aprakstīt ar vienu regresijas vienādojumu (sk. 14. att., melnā nepārtrauktā līnija).

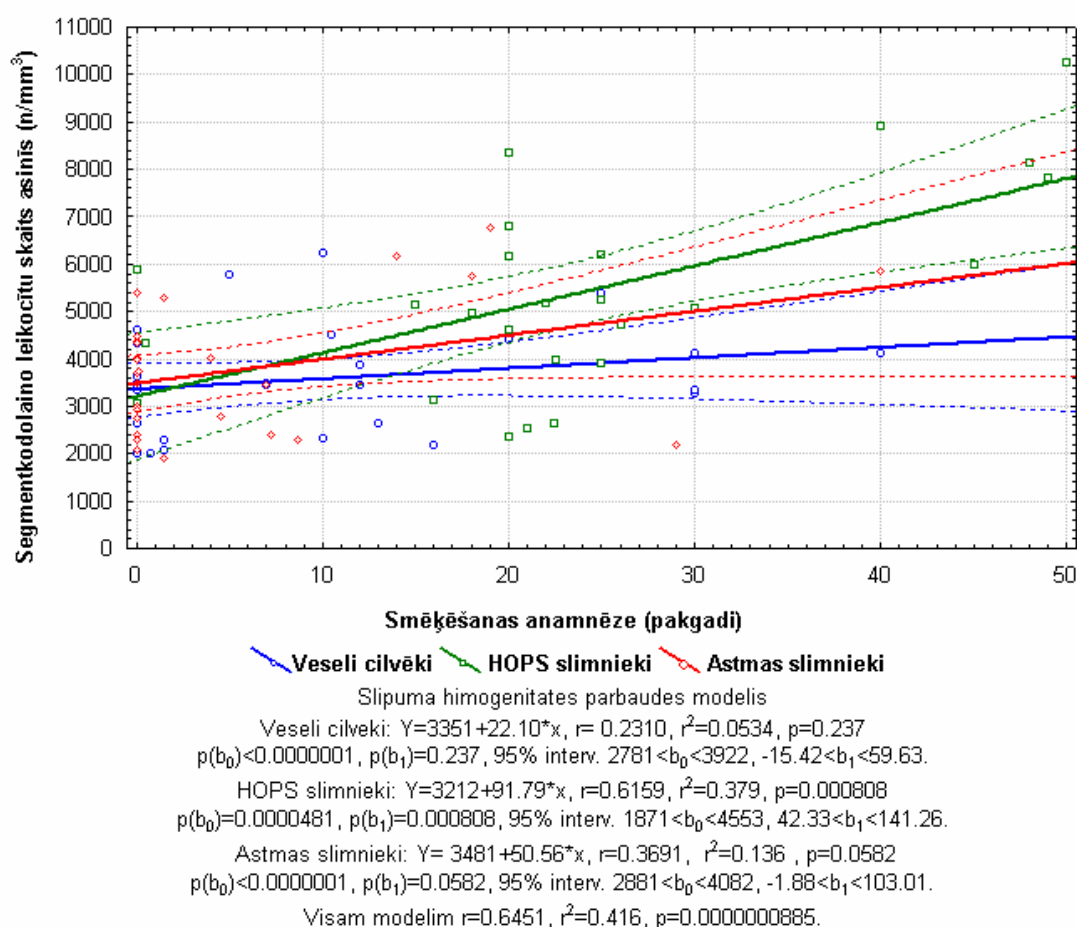


14. attēls. Smēķēšanas ietekme uz segmentkodolaino neitrofilo leukocītu relatīvo skaitu venozajās asinīs veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī kopā apvienotiem HOPS un astmas slimniekiem. Ar pārtrauktām līnijām apzīmētas HOPS un astmas slimnieku grupas pirms apvienošanas, ar nepārtrauktām līnijām- izveidotais divfaktoru sinusa kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šī modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Veselo cilvēku grupā netika konstatēta ticama mūžā izsmēķētās tabakas daudzuma ietekme uz segmentkodolaino neitrofilo leukocītu relatīvo skaitu venozajās asinīs (sk. 14. att., zilie, $p=0,457$).

Izmantojot divfaktoru SKASHP modeli, konstatējām, ka segmentkodolaino leukocītu relatīvais skaits asinīs neatšķiras nevienai pētītajai cilvēku grupai ja smēķēšanas stāžs ir mazs (b_0 koeficientu atšķirība starp grupām nebūtiska, $p=0,509$). Smēķēšanas stāžam pieaugot vienādi būtiski pieaug relatīvais segmentkodolaino leukocītu skaits asinīs HOPS un astmas slimniekiem $r^2=17,2\%$, $r=0,415$, $p=0,0014$, kas būtiski $p=0,021$ atšķiras no veseliem cilvēkiem, kam izmaiņas nekonstatēja (sk. 14. att., melnā un zilā nepārtrauktā līnija).

Izmantojot divfaktoru LKASHP modeli noskaidrojām, ka segmentkodolaino leukocītu absolūtais skaits asinīs neatšķiras nevienai pētītajai cilvēku grupai ja smēķēšanas stāžs ir mazs (sk. 15. att., b_0 koeficientu atšķirības starp grupām nebūtiskas- līkņu augstums pie 0 pakgadiem būtiski neatšķiras).



15. attēls. Mūžā izsmēķētās tabakas daudzuma ietekme uz segmentkodolaino neitrofilo leukocītu absolūto skaitu venozajās asinīs veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Divfaktoru lineārās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Smēķēšanas stāžam pieaugot būtiski pieaug absolūtais segmentkodolaino leukocītu skaits asinīs **HOPS slimniekiem** $r^2=37,9\%$, $r=0,616$, $p=0,00081$, kas būtiski $p=0,028$ atšķiras no **veseliem cilvēkiem**, kam izmaiņas nekonstatēja (sk. 15. att. zaļo un zilo līkni). **Bronhiālās astmas slimniekiem** konstatēja asins segmentkodolaino

neitrofilo leukocītu absolūtā skaita palielināšanās tendenci, bet mazāk izteiktu nekā HOPS slimniekiem (sk. 15. att., sarkanie, $p=0,0582$).

1.2.2. Eozinofilie leukocīti asinīs

Ticamu smēķēšanas ietekmi uz eozinofilu leukocītu relatīvo un absolūto skaitu asinīs nekonstatējām. Izmantojot vienfaktora NDA modeli konstatēja, ka eozinofilu leukocītu relatīvais skaits būtiski lielāks astmas slimniekiem 4,3% (2,8 – 6,1%) nekā veseliem cilvēkiem 1,8% (1,2 – 2,5%) $p=0,0018$ un HOPS slimniekiem 1,8 (1,0 – 2,8%) $p=0,0042$, bet absolūtais 289 n/mm^3 (185 – 414 n/mm^3) - nekā veseliem cilvēkiem 116 n/mm^3 (71 – 171 n/mm^3) $p=0,011$.

1.2.3. Monocīti asinīs

Mūžā izsmēķētās tabakas daudzums būtiski neietekmēja monocītu relatīvo skaitu venozajās asinīs nevienā pētītajā (**veselo cilvēku, HOPS, un bronhiālās astmas slimnieku**) grupā, arī monocītu relatīvais skaits būtiski neatšķīrās starp šīm grupām.

Ticama smēķēšanas ietekmi uz monocītu absolūto skaitu asinīs nekonstatējām. Izmantojot vienfaktora NDA modeli konstatēja, ka monocītu absolūtais skaits būtiski lielāks **HOPS slimniekiem** 596 n/mm^3 (no 497 līdz 703 n/mm^3) nekā **veseliem cilvēkiem** 388 n/mm^3 (no 290 līdz 499 n/mm^3), $p=0,0134$. Turpretī būtiskas atšķirības netika novērotas starp **veselu cilvēku un bronhiālās astmas slimnieku** grupām, kā arī starp **HOPS un bronhiālās astmas slimnieku** grupām (astmas grupai: 477 n/mm^3 (no 384 līdz 579 n/mm^3)).

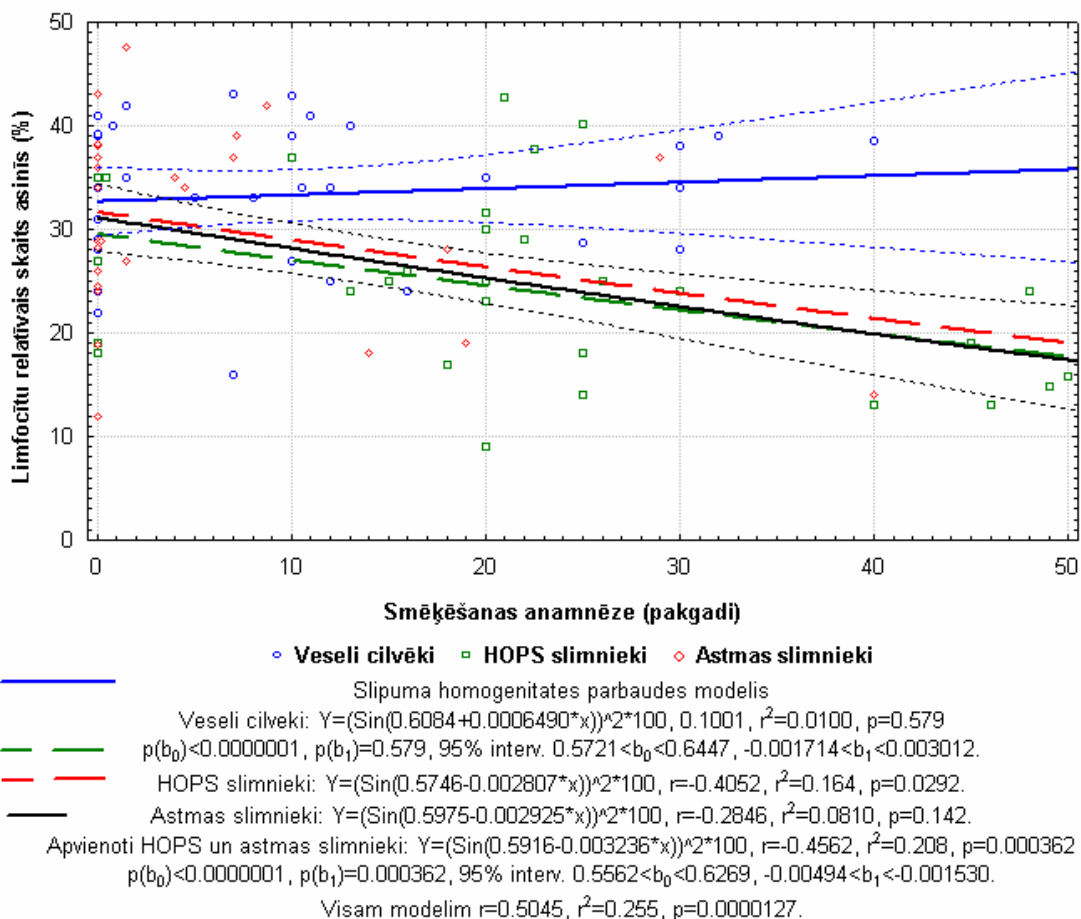
1.2.4. Limfocīti asinīs

Tā kā, izmantojot divfaktoru SKASHP modeli gan **HOPS**, gan **bronhiālās astmas slimniekiem** konstatēja limfocītu relatīvā skaita mazināšanos venozajās asinīs mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekmē (sk. 16. att., zaļa un sarkanā pārtrauktā līnija), bet neatklāja būtiskas atšķirības starp HOPS un astmas slimnieku grupu regresijas vienādojumiem (gan b_0 koeficienti neatšķīrās, $p=0,563$, gan b_1 koeficienti neatšķīrās, $p=0,959$), matemātiski abas šīs grupas var apvienot vienā grupā (apvienotā HOPS un astmas slimnieku grupā) un aprakstīt ar vienu regresijas vienādojumu (sk. 16. att., melnā nepārtrauktā līnija).

Veseliem cilvēkiem netika novērota būtiska mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekme uz limfocītu relatīvo skaitu venozajās asinīs (sk. 16. att., zilie, $p=0,579$).

Izmantojot divfaktoru SKASHP modeli, neizdevās atrast būtiskas atšķirības asins limfocītu relatīvā skaitā starp veselo cilvēku, HOPS un astmas slimnieku grupu smēķētājiem ar mazu stāžu (b_0 koeficientu atšķirība starp grupām nebūtiska, $p=0,533$). Smēķēšanas stāžam pieaugot vienādi būtiski mazinās relatīvais limfocītu skaits asinīs HOPS un astmas slimniekiem $r^2=20,8\%$, $r=-0,46$, $p=0,00036$, kas būtiski $p=0,017$ atšķiras no veseliem cilvēkiem, kam izmaiņas nekonstatēja (sk. 16. att., zilā un melnā nepārtrauktā līnija).

Ne **veseliem** cilvēkiem, ne **HOPS**, ne **bronhiālās astmas slimniekiem** mūžā izsmēķētās tabakas daudzums būtiski neietekmēja asins limfocītu absolūto skaitu, kā arī limfocītu absolūtais skaits būtiski neatšķīrās starp pētītajām cilvēku grupām.



16. attēls. Smēķēšanas ietekme uz limfocītu relatīvo skaitu venozajās asinīs veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī kopā apvienotiem HOPS un astmas slimniekiem. Ar pārtrauktām līnijām apzīmētas HOPS un astmas slimnieku grupas pirms apvienošanas, ar nepārtrauktām līnijām-izveidotais divfaktoru sinusa kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētu līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

1.2.5. Bazofīlie leukocīti asinīs

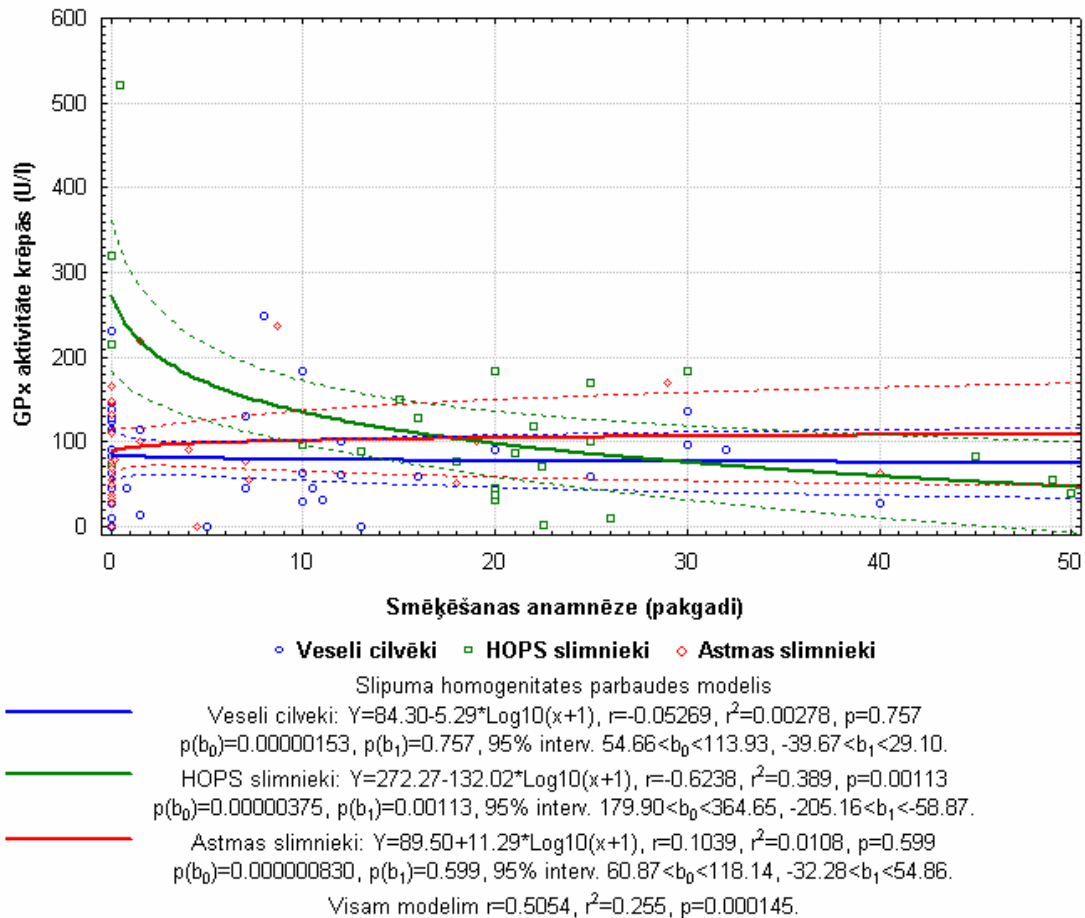
Mūžā izsmēķētās tabakas daudzums būtiski neietekmēja bazofīlo leukocītu relatīvo un absolūto skaitu venozajās asinīs nevienā no pētītajām (**veselo cilvēku**, **HOPS**, un **bronhiālās astmas slimnieku**) grupām, kā arī bazofīlo leukocītu relatīvais un absolūtais skaits būtiski neatšķīrās starp šīm grupām.

2. Bioķīmiskie raksturlielumi

2.1. Smēķēšanas izraisītās krēpu antioksidatīvā statusā pārmaiņas

2.1.1. Glutaciona peroksidāzes aktivitāte krēpās

Izmantojot divfaktoru LGKASHP modeli, tika konstatēts, ka GPx aktivitāte krēpās HOPS slimniekiem ar mazu smēķēšanas stāžu ir būtiski lielāka nekā veseliem cilvēkiem ($p=0,00002$, b_0 koeficientu atšķirības) un astmas slimniekiem ($p=0,00005$), bet smēķēšanas stāžam pieaugot būtiski mazinās tikai HOPS slimniekiem $r^2=38,9\%$, $r=-0,624$, $p=0,0011$, kas būtiski $p=0,00069$, $p=0,00073$ atšķiras no abām pārējām grupām, kam izmaiņas nekonstatē(sk. 17. att., zilā zaļā un sarkanā līkne).



17. attēls. Smēķēšanas ietekme uz glutaciona peroksidāzes aktivitāti ierosinātās krēpās veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Divfaktoru logaritmiskās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

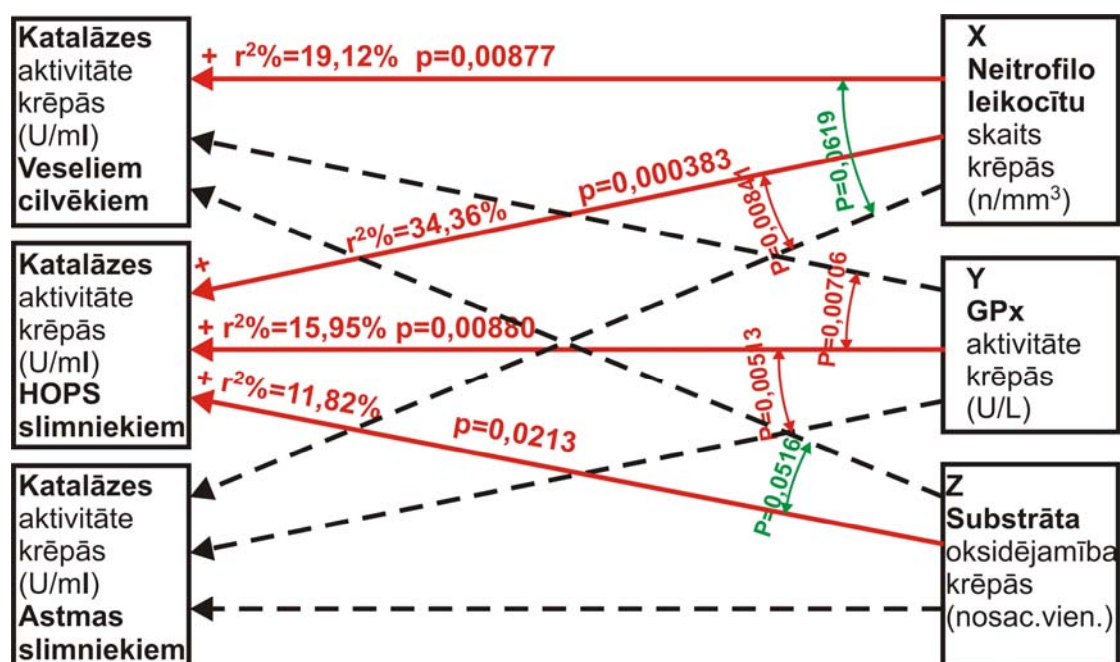
2.1.2. Katalāzes aktivitāte krēpās

Ne **veseliem** cilvēkiem, ne **HOPS**, ne **bronhiālās astmas** slimniekiem netika novērota būtiska mūžā izsmēķētās tabakas daudzuma ietekme uz ierosināto krēpu supernatanta CAT aktivitāti.

Vislabāk krēpu supernatanta katalāzes aktivitāti **HOPS** slimniekiem var skaidrot, izmantojot trīsfaktoru pakāpes regresijas modeli, kas ietilpst četrfaktoru PAKASHP modelī. Šai trīsfaktoru pakāpes regresijas modelī atkarīgais faktora k-CAT aktivitāte mainās atkarībā no neatkarīgajiem kvantitatīvajiem faktoriem: x- neitrofilo leukocītu absolūtā skaita krēpās, y- GPx aktivitātes krēpu supernatantā un z-krēpu supernatanta oksidējamības (S). Savukārt, lai pārbaudītu atšķirības faktoru ietekmē starp veselu cilvēku, HOPS un bronhiālās astmas slimnieku grupām, visu šo grupu regresijas apvienotas četrfaktoru pakāpes kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes (PAKASHP) modelī, kur ceturtais neatkarīgais kvalitatīvais faktors ir diagnoze ar trim klasēm (veseli cilvēki, HOPS, astmas slimnieki). Tā kā četrdimensiju telpas grafiku nav iespējams attēlot, šis modelis attēlots shēmas veidā (sk. 18. att.).

CAT aktivitāti krēpās **HOPS slimniekiem** būtiski pozitīvi ietekmē neitrofilo leukocītu absolūtais skaits ($r^2=34,3\%$, $p=0,00038$), GPx aktivitāte ($r^2=16,0\%$, $p=0,0088$) un S ($r^2=11,8\%$, $p=0,021$) krēpā. CAT aktivitāti krēpās **veseliem cilvēkiem**

būtiski pozitīvi ietekmē neitrofilo leukocītu absolūtais skaits krēpās (sk. 18. att., $r^2=19,1\%$, $p=0,0088$). **Bronhiālās astmas** slimniekiem netika novērota ticama krēpu neitrofilo leukocītu, GPx un krēpu supernatanta S ietekme uz CAT aktivitāti krēpās (sk. 18. att., attiecīgi $p=0,594$, $p=0,133$, $p=0,579$).



Veselie cilvēki $k=3,106 * x^{0,2713} * (y+1)^{-0,09286} * z^{-0,003653} - 1$, $r=0,4639$, $r^2=0,215$, $p=0,0491$
 $p(b_0)=0,492$, $p(b_1)=0,00877$, $p(b_2)=0,332$, $p(b_3)=0,969$.

95% intervāls:

$0,6356 < b_0 < 15,18$, $0,07336 < b_1 < 0,4692$, $-0,2851 < b_2 < 0,09934$, $-0,1938 < b_3 < 0,1865$.

HOPS slimnieki $k=0,02145 * x^{0,4838} * (y+1)^{0,3844} * z^{0,3438} - 1$, $r=0,7883$, $r^2=0,621$,
 $p=0,0000402$.

$p(b_0)=0,00183$, $p(b_1)=0,000383$, $p(b_2)=0,00880$, $p(b_3)=0,0213$.

95% intervāls:

$0,002303 < b_0 < 0,1998$, $0,2469 < b_1 < 0,7207$, $0,1082 < b_2 < 0,6606$, $0,05685 < b_3 < 0,6307$.

Astmas slimnieki $k=63,46 * x^{-0,09851} * (y+1)^{-0,2911} * z^{0,1144} - 1$, $r=0,3647$, $r^2=0,133$, $p=0,391$
 $p(b_0)=0,0443$, $p(b_1)=0,594$, $p(b_2)=0,133$, $p(b_3)=0,579$.

95% intervāls:

$1,124 < b_0 < 3583$, $-0,4782 < b_1 < 0,2812$, $-0,6786 < b_2 < 0,09633$, $-0,3084 < b_3 < 0,5371$.

Visam modelim $r=0,6242$, $r^2=0,390$, $p=0,0000897$.

18. attēls. Krēpu neitrofilo leukocītu relatīvā skaita, krēpu supernatanta glutaciona peroksidāzes aktivitātes un krēpu supernatanta substrāta oksidējamības ietekme uz katalāzes aktivitāti ierosinātās krēpās veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Četrfaktoru pakāpes kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Modelis attēlots shematiski, jo nav iespējams attēlot četrdimensiju telpu grafiski. Ar leņķa apzīmējumiem attēlota diagnozes un attiecīgā kvantitatīvā faktora mijiedarbība-attiecīgā faktora ietekmes atšķirības starp pētītajām slimnieku grupām.

Izmantojot četrfaktoru PAKASHP modeli, tika konstatēts, ka diagnozes ietekme uz CAT aktivitāti ir būtiska. CAT aktivitāte HOPS slimniekiem ir zemāka nekā veseliem un astmas slimniekiem ja izslēgta citu faktoru ietekme (b_0 koeficients ir būtiski mazāks nekā veselo cilvēku un bronhiālās astmas slimnieku grupām - $p=0,000715$ un $p=0,000544$ attiecīgi). b_0 koeficients raksturo,

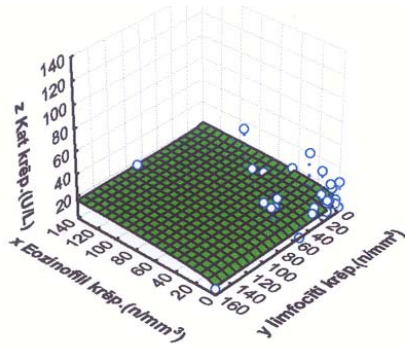
kāda būtu CAT aktivitāte katrā slimnieku grupā, ja būtu izslēgta pārējo faktoru (neitrofilo leukocītu skaits krēpās, GPx aktivitāte krēpās un krēpu S) ietekme (shēmā nav attēlota).

Salīdzinot neitrofilo leukocītu absolūtā skaita krēpās ietekmi uz CAT aktivitāti (b_1 koeficienti) starp HOPS un astmas slimnieku grupu, HOPS grupai atklāja būtiski ($p=0,00841$) lielāku pozitīvu neitrofilo leukocītu skaita ietekmi uz CAT aktivitāti salīdzinājumā ar astmas slimnieku grupu (sk. 18. att., attiecīgais leņķa apzīmējums), kam šāda ietekme netika novērota.

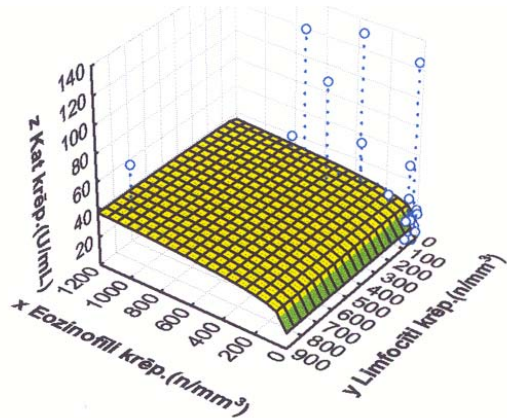
GPx ietekme uz katalāzes aktivitāti (b_2 koeficienti) HOPS slimnieku grupai bija būtiski pozitīvi lielāka gan salīdzinājumā ar veselo cilvēku, gan astmas slimnieku grupu (sk. 18. att., leņķa apzīmējumi, attiecīgi $p=0,00706$, $p=0,00513$). Krēpu supernatanta S ietekmei uz CAT aktivitāti (b_3 koeficienti) HOPS slimnieku grupai bija tendence būt lielākai salīdzinājumā ar veselo cilvēku grupu ($p=0,0516$).

Vislabāk krēpu supernatanta CAT aktivitāti **bronhiālās astmas** slimniekiem var skaidrot, izmantojot divfaktoru pakāpes regresijas modeli, kas ietilpst trīsfaktoru PAKASHP modelī. Šai divfaktoru pakāpes regresijas modelī atkarīgais faktora z-CAT aktivitāte mainās atkarībā no neatkarīgajiem kvantitatīvajiem faktoriem: x- eozinofilo leukocītu absolūtā skaita krēpās un y- limfocītu absolūtā skaita krēpās. Savukārt, lai pārbaudītu atšķirības faktoru ietekmē starp veselu cilvēku, HOPS un bronhiālās astmas slimnieku grupām, visu šo grupu regresijas apvienotas trīsfaktoru pakāpes kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes (PAKASHP) modelī, kur ceturtais neatkarīgais kvalitatīvais faktors ir diagnoze ar trim klasēm - veseli cilvēki, HOPS un astmas slimnieki (sk. 19. att.).

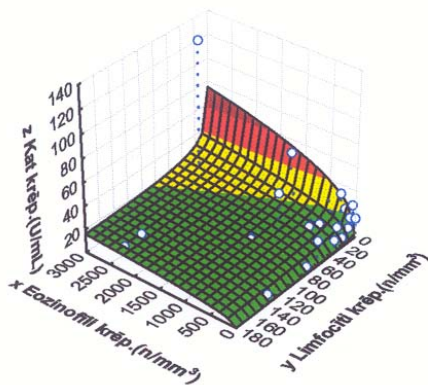
CAT aktivitāti krēpās **astmas slimniekiem** būtiski pozitīvi ietekmē eozinofilo leukocītu ($r^2=21,4\%$, $p=0,011$) un negatīvi limfocītu ($r^2=14,3\%$, $p=0,034$) absolūtais skaits krēpā. **HOPS** slimnieku grupā pozitīvas ietekmes tendenci uz CAT aktivitāti krēpās izrādīja eozinofilo leukocītu absolūtais skaits ierosinātās krēpās ($r^2=12,9\%$, $p=0,0604$). **Veselu** cilvēku grupā netika novērota ticama krēpu eozinofilo leukocītu un limfocītu ietekme uz katalāzes aktivitāti ierosinātās krēpās (sk. 19. att., attiecīgi $p=0,112$ un $p=0,672$).



Veseli cilvēki



HOPS slimnieki



Astmas slimnieki

Veseli cilvēki $r=0.2864$, $r^2=0.0820$, $p=0.264$

$$z=10.8069*(x+1)^{0.1405}*(y+1)^{-0.04060}_-1$$

$p(b_0)<0.0000001$, $p(b_1)=0.112$, $p(b_2)=0.672$

95% interv. $5.569<b_0<20.97$

95% interv. $-0.03442<b_1<0.3153$

95% interv. $-0.2339<b_2<0.1527$

HOPS slimnieki $r=0.3600$, $r^2=0.130$, $p=0.164$

$$z=11.2729*(x+1)^{0.1636}*(y+1)^{0.01300}_-1$$

$p(b_0)=0.0000182$, $p(b_1)=0.0604$, $p(b_2)=0.903$

95% interv. $4.353<b_0<29.19$

95% interv. $-0.007669<b_1<0.3348$

95% interv. $-0.2044<b_2<0.2304$

Astmas slimnieki $r=0.5975$, $r^2=0.357$, $p=0.0249$

$$z=4.1805*(x+1)^{0.3624}*(y+1)^{-0.2889}_-1$$

$p(b_0)=0.0388$, $p(b_1)=0.0109$, $p(b_2)=0.0337$

95% interv. $1.083<b_0<16.13$

95% interv. $0.09173<b_1<0.6330$

95% interv. $-0.5536<b_2<-0.02423$

Visam modelim $r=0.4445$, $r^2=0.198$, $p=0.0180$

19. attēls. Krēpu eozinofilo leukocītu un limfocītu absolūtā skaita ietekme uz katalāzes aktivitāti ierosinātās krēpās veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Trīs faktoru pakāpes kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis.

2.1.3. Krēpu substrāta oksidējamība

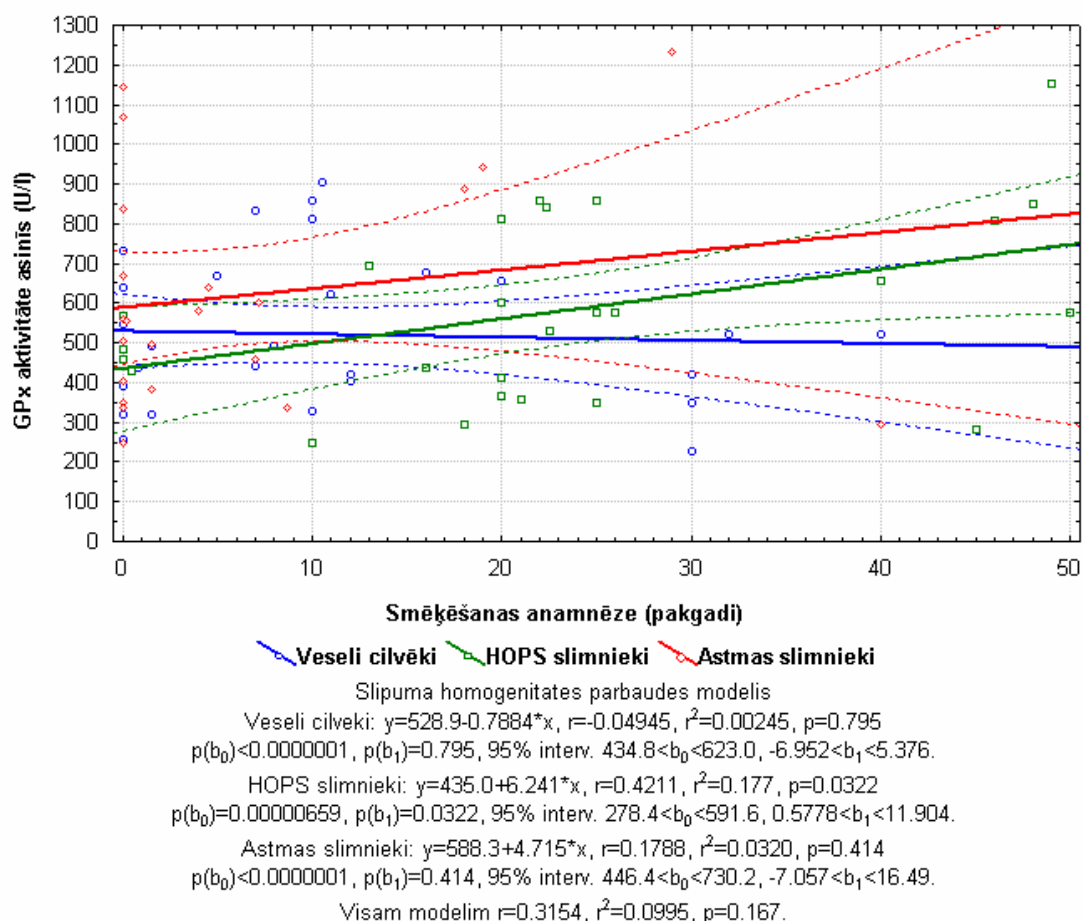
Netika novērota ne mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma, ne citu kvantitatīvo faktoru ietekme uz krēpu supernatanta oksidējamību (S).

Tika konstatēta tendence būt palielinātai krēpu S **HOPS slimniekiem** salīdzinot ar **veseliem cilvēkiem** $p=0,054$, 45,8 n. v. (29,4 – 71,5 n. v.) un 21,8 n. v. (13,7 – 34,9 n. v.). Turpretī būtiskas atšķirības netika novērotas starp **veselu** cilvēku un **bronhiālās astmas** slimnieku grupām, kā arī starp **HOPS** un **bronhiālās astmas** slimnieku grupām (astmas grupai: 34,65 n. v. (22,89 - 52,43 n. v.)).

2.2. Smēķēšanas izraisītas asins plazmas antioksidatīvā statusa pārmaiņas

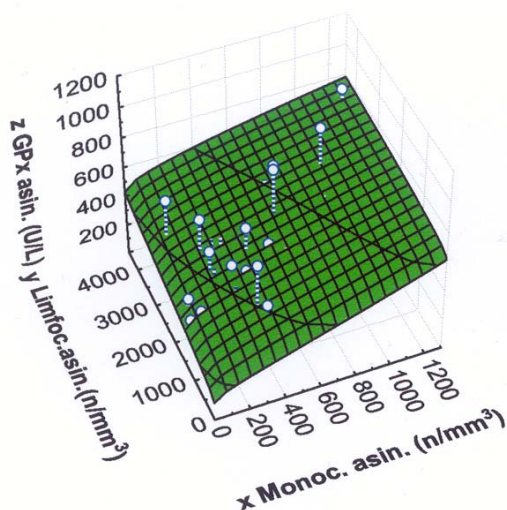
2.2.1. Glutaciona peroksidāzes aktivitāte asins plazmā

Vislabāk asins plazmas GPx aktivitāti **HOPS** slimniekiem var skaidrot, izmantojot vienfaktora lineārās regresijas modeli, kas ietilpst divfaktoru LKASHP modelī (sk. 20. att.). Plazmas GPx aktivitāte starp grupām neatšķirās maza smēķēšanas stāža gadījumā, bet smēķēšanas stāžam pieaugot būtiski palielinājās HOPS slimniekiem $r^2=17,7\%$, $r=0,421$, $p=0,032$ (sk. 20. att. zaļie).

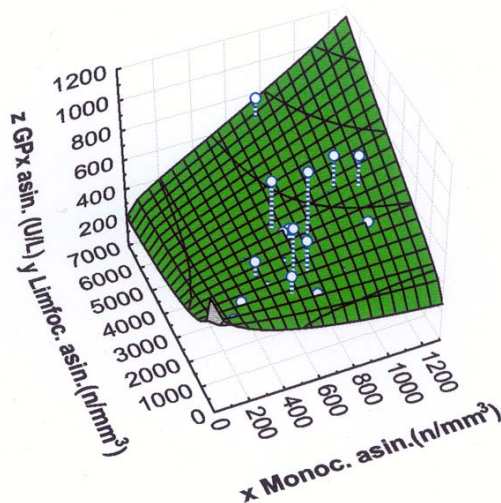


20. attēls. Smēķēšanas ietekme uz glutaciona peroksidāzes aktivitāti asins plazmā veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Divfaktoru lineārās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

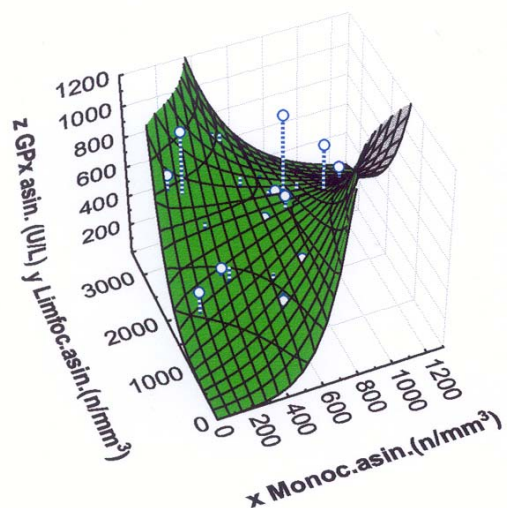
Ne **veseliem** cilvēkiem, ne **bronhiālās astmas** slimniekiem netika novērota būtiska mūžā izsmēķētās tabakas daudzuma ietekme uz GPx aktivitāti plazmā (sk. 20. att., zilie, un sarkanie).



Veseli cilvēki



HOPS slimnieki



Astmas slimnieki

Veseli cilvēki: $r=0.2273$, $r^2=0.0517$, $p=0.0427$
 $z=122.9*1.04592^{\text{sqrt}(x)}*1.01881^{\text{sqrt}(y)}*0.9995817^{\text{sqrt}(x)*\text{sqrt}(y)}$
 $p(b_0)=0.00160$, $p(b_1)=0.477$, $p(b_2)=0.510$, $p(b_3)=0.738$
 95% interv. $7.853 < b_0 < 1922$
 95% interv. $0.91914 < b_1 < 1.1902$, $r_1^2=0.0249$
 95% interv. $0.96141 < b_2 < 1.07964$, $r_2^2=0.0213$
 95% interv. $0.997016 < b_3 < 1.002154$, $r_3^2=0.00547$

HOPS slimnieki: $r=0.1690$, $r^2=0.0286$, $p=0.617$
 $z=800.2*0.9694^{\text{sqrt}(x)}*0.9839^{\text{sqrt}(y)}*1.0009371^{\text{sqrt}(x)*\text{sqrt}(y)}$
 $p(b_0)=0.00360$, $p(b_1)=0.700$, $p(b_2)=0.740$, $p(b_3)=0.615$
 95% interv. $12.03 < b_0 < 53239$
 95% interv. $0.8206 < b_1 < 1.1452$, $r_1^2=0.00827$
 95% interv. $0.8893 < b_2 < 1.08858$, $r_2^2=0.00614$
 95% interv. $0.997098 < b_3 < 1.004792$, $r_3^2=0.0142$

Astmas slimnieki: $r=0.7294$, $r^2=0.5320$, $p=0.0264$
 $z=0.03435*1.4654^{\text{sqrt}(x)}*1.2373^{\text{sqrt}(y)}*0.991681^{\text{sqrt}(x)*\text{sqrt}(y)}$
 $p(b_0)=0.335$, $p(b_1)=0.0216$, $p(b_2)=0.0114$, $p(b_3)=0.0229$
 95% interv. $0.00002707 < b_0 < 43.59$
 95% interv. $1.06513 < b_1 < 2.016$, $r_1^2=0.165$
 95% interv. $1.05567 < b_2 < 1.4501$, $r_2^2=0.206$
 95% interv. $0.98471 < b_3 < 0.99870$, $r_3^2=0.161$

Visam modelim $r=0.5400$, $r^2=0.292$, $p=0.0357$.

21. attēls. Asins monocītu un limfocītu absolūtā skaita un to mijiedarbības ietekme uz glutaciona peroksidāzes aktivitāti asins plazmā veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Trīs faktoru eksponenciālās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis.

Vislabāk plazmas GPx aktivitātes pārmaiņas **bronhiālās astmas** slimniekiem var skaidrot, izmantojot divfaktoru eksponenciālās regresijas modeli ar mijiedarbību, kas ietilpst trīsfaktoru EKASHP modeli. Šai divfaktoru eksponenciālās regresijas modeli ar mijiedarbību atkarīgais faktora z - GPx aktivitāte mainās atkarībā no neatkarīgajiem kvantitatīvajiem faktoriem: x - monocītu, y - limfocītu absolūtais skaits krēpās un $x*y$ - monocītu un limfocītu mijiedarbība. Savukārt, lai pārbaudītu atšķirības faktoru ietekmē starp veselu cilvēku, HOPS un bronhiālās astmas slimnieku grupām, visu šo grupu regresijas apvienotas trīsfaktoru eksponenciālās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes (EKASHP) modeli, kur ceturtais neatkarīgais kvalitatīvais faktors ir diagnoze ar trim klasēm - veseli cilvēki, HOPS, astma slimnieki (sk. 21. att.).

GPx aktivitāti plazmā **astmas slimniekiem** būtiski pozitīvi ietekmē monocītu ($r^2=16,5\%$, $p=0,022$), un limfocītu ($r^2=20,6\%$, $p=0,011$) absolūtais skaits asinīs, bet negatīvi šo faktoru mijiedarbība ($r^2=16,1\%$, $p=0,023$). Ne **veselu** cilvēku, ne **HOPS** slimnieku grupā netika novērota ticama asins monocītu un limfocītu, kā arī to mijiedarbības ietekme uz glutaciona peroksidāzes aktivitāti plazmā (sk. 21. att., attiecīgi veseliem cilvēkiem: $p=0,477$, $p=0,510$ un $p=0,738$, HOPS slimniekiem: $p=0,700$, $p=0,740$ un $p=0,615$).

Izmantojot trīsfaktoru EKASHP modeli, astmas slimniekiem tika atklāta būtiski vājāka GPx aktivitāte salīdzinājumā ar veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupu (attiecīgi $p=0,0250$ un $p=0,0194$) - b_0 koeficients mazāks astmas grupai salīdzinājumā ar veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupu b_0 koeficientiem. b_0 koeficients raksturo, kāda būtu GPx aktivitāte katrā slimnieku grupā, ja būtu izslēgta pārējo faktoru (monocītu, limfocītu un to mijiedarbības) ietekme.

Monocītu absolūtā skaita ietekme būtiski atšķīrās starp veselo cilvēku un astmas slimnieku grupām ($p=0,0392$), kā arī starp HOPS un astmas slimnieku grupām ($p=0,0272$) – ja astmas slimnieku grupai, monocītu skaitam palielinoties, būtiski pieauga arī GPx aktivitāte plazmā tad, veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupā GPx aktivitāte monocītu ietekmē būtiski nemainījās.

Limfocītu absolūtā skaita asinīs ietekme uz GPx aktivitāti (b_2 koeficienti) astmas slimnieku grupai atšķīrās būtiski no veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupām (attiecīgi $p=0,0147$ un $p=0,0186$), astmas slimniekiem limfocītu skaitam pieaugot, būtiski pieauga arī GPx aktivitāte, turpretī abām pārējām grupām GPx aktivitāte ticami nemainījās.

Monocītu un limfocītu mijiedarbības ietekme astmas slimnieku grupai būtiski atšķīrās gan no veselo cilvēku, gan HOPS slimnieku grupas (attiecīgi $p=0,0263$ un $p=0,0259$). Astmas slimnieku grupā atšķirībā no abām pārējām grupām šai mijiedarbībai bija būtiska negatīva ietekme uz GPx aktivitāti plazmā.

2.2.2. Asins plazmas substrāta oksidējamība

Ne **veseliem** cilvēkiem, ne **HOPS**, ne **bronhiālās astmas** slimniekiem mūžā izsmēķētās tabakas daudzums būtiski neietekmēja plazmas substrāta oksidējamību (S), kā arī S būtiski neatšķīrās starp pētītajām grupām.

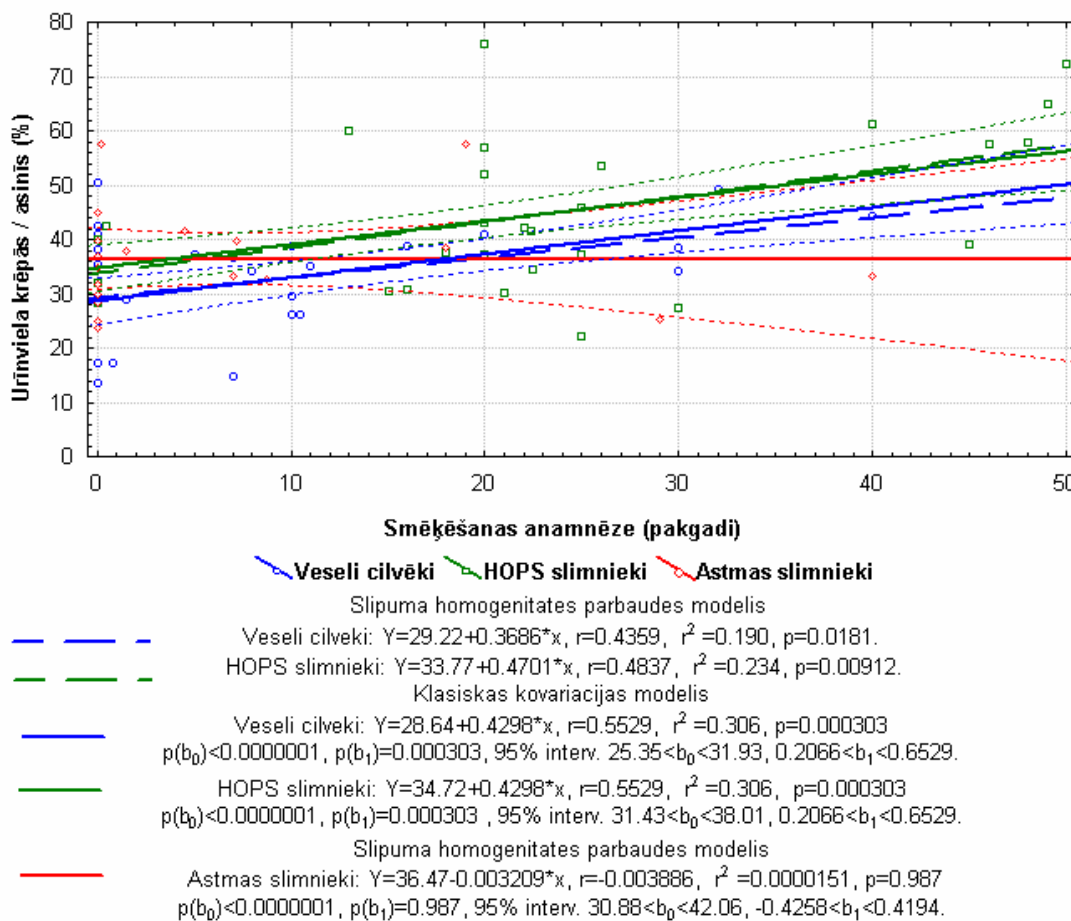
2.3. Smēķēšanas izraisītas krēpu un asins urīnvielas koncentrācijas proporcijas pārmaiņas

Tā kā urīnvielas relatīvā koncentrācija ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas asins plazmā bijas atkarīga gan no mūžā izsmēķētās tabakas daudzuma, gan no krēpu ierosināšanas laika, gan no glutaciona peroksidāzes aktivitātes krēpu supernatantā, gan no glutaciona peroksidāzes aktivitātes plazmā. Savukārt glutaciona peroksidāzes aktivitāte gan krēpu supernatantā, gan plazmā bija atkarīga no izsmēķētajiem pakgadiem (neatkarīgie faktori bija savstarpēji saistīti),

tāpēc šo procesu aprakstīšanai tika izmantotas četras atsevišķas divfaktoru kovariācijas analīzes, nevis viena daudzfaktoru kovariācijas analīze.

Mūžā izsmēķētās tabakas daudzuma ietekme uz urīnvielas attiecību

Tā kā, izmantojot divfaktoru LKASHP modeli, gan veseliem cilvēkiem, gan HOPS slimniekiem līdzīgi mūžā izsmēķētās tabakas daudzums palielināja urīnvielas relatīvo koncentrāciju ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā (b_1 koeficienti būtiski neatšķīrās, $p=0,660$, sk. 22. att., zilā un zaļā pārtrauktā līnija ir paralēlas), divfaktoru LKASHP modelis tika aizstāts ar divfaktoru LKKA modeli (abām grupām aprēķina kopēju virziena koeficientu b_1 , sk. 22. att., zilā un zaļā nepārtrauktā līnija).



22. attēls. Smēķēšanas ietekme uz urīnvielas relatīvo koncentrāciju ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas asins plazmā veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Ar pārtrauktām līnijām apzīmēts divfaktoru lineārās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis, ar nepārtrauktām līnijām - divfaktoru lineārās klasiskās kovariācijas analīzes modelis, bet ar punktētām līnijām - šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

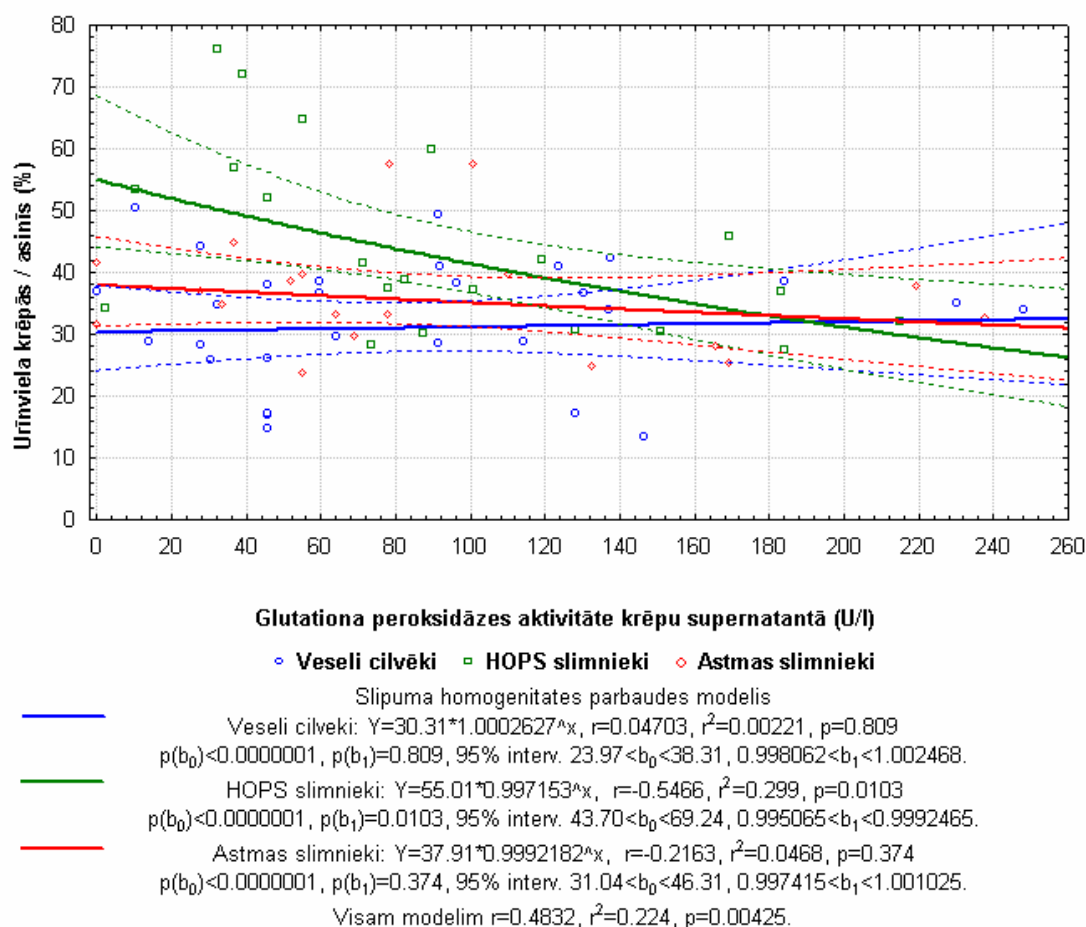
Izmantojot divfaktoru LKKA un LKASHP modeli, atklāja, ka urīnvielas relatīvo koncentrāciju ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā **HOPS slimniekiem** ir lielāka nekā **veseliem cilvēkiem** ($p=0,0696$, sk. 22. att., zilā un zaļā nepārtrauktā līnija) un smēķēšanas stāžam pieaugot būtiski palielinās **HOPS slimniekiem un veseliem cilvēkiem** ($r^2=30,6\%$, $r=0,553$, $p=0,000303$, sk. 22. att., zilā un zaļā nepārtrauktā līnija). Turpretī **astmas slimniekiem** mūžā izsmēķētās tabakas daudzums būtiski neietekmēja urīnvielas relatīvo koncentrāciju ierosinātās

krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā ($p=0,987$, sk. 22. att., sarkanā nepārtrauktā līnija).

Astmas slimniekiem ar mazu smēķēšanas stāžu urīnvielas relatīvā koncentrācija ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā bija būtiski lielāka ($p=0,0380$) nekā veselo cilvēku grupai, bet būtiski neatšķīrās no HOPS slimnieku grupas.

Krēpu supernatanta glutaciona peroksidāzes aktivitātes ietekme uz urīnvielas attiecību

Izmantojot divfaktoru EKASHP modeli, tika konstatēts, ka urīnvielas relatīvā koncentrācija ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā HOPS slimniekiem ir būtiski lielāks nekā veseliem cilvēkiem ($p=0,00094$ b_0 koeficientu atšķirības) un astmas slimniekiem ($p=0,015$) vājas krēpu GPx aktivitātes gadījumā, bet GPx aktivitātei pieaugot būtiski samazinās tikai HOPS slimniekiem $r^2=29,9\%$, $r=-0,547$, $p=0,010$ (sk. 23. att.).



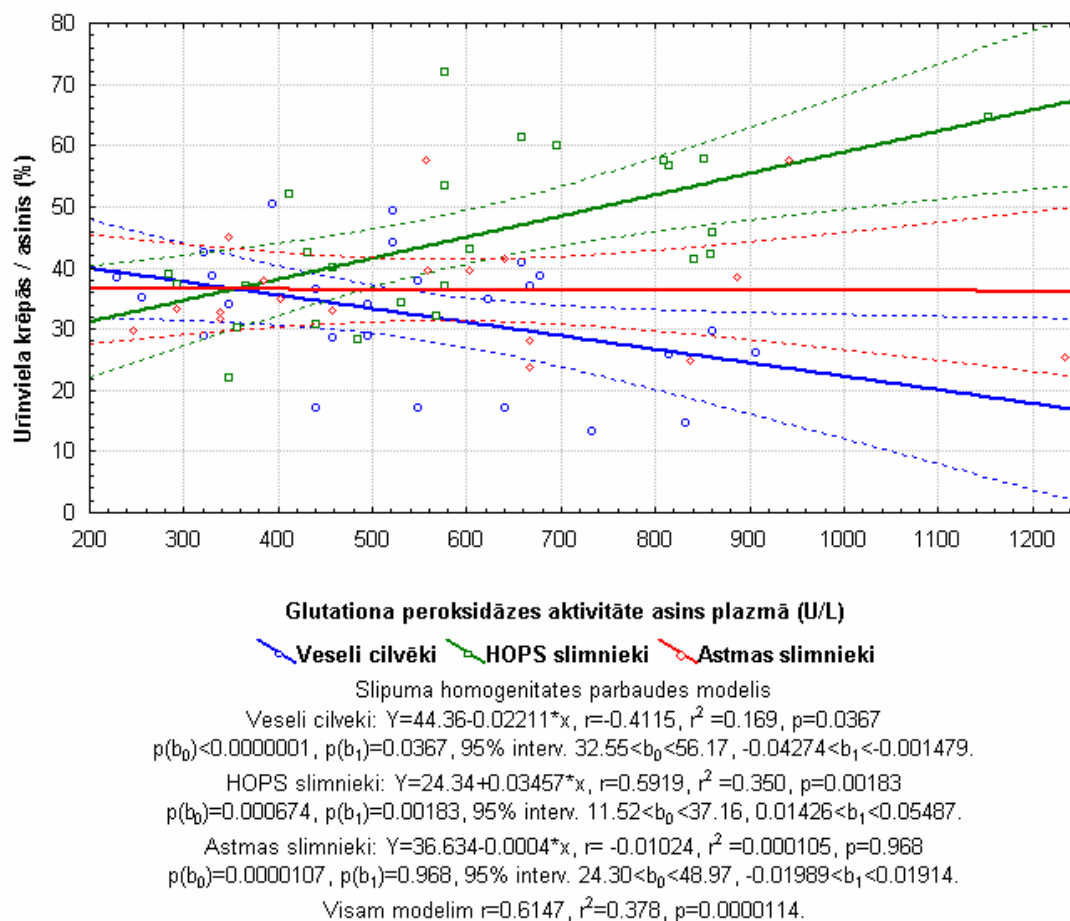
23. attēls. Krēpu supernatanta glutaciona peroksidāzes aktivitātes ietekme uz urīnvielas relatīvo koncentrāciju ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas asins plazmā veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Divfaktoru eksponentcālās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Asins plazmas glutaciona peroksidāzes aktivitātes ietekme uz urīnvielas attiecību

Izmantojot divfaktoru LKASHP modeli, tika konstatēts, ka urīnvielas relatīvā koncentrācija ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā HOPS

slimniekiem ir būtiski lielāks nekā **veselīem cilvēkiem** ($p=0,022$ b_0 koeficientu atšķirības) vājas plazmas GPx aktivitātes gadījumā, bet GPx aktivitātei pieaugot būtiski palielinās HOPS slimniekiem $r^2=35,0\%$, $r=0,592$, $p=0,0018$, un būtiski mazinās veselīem cilvēkiem $r^2=16,9$, $r=-0,412$, $p=0,037$ (sk. 24. att., zaļie un zilie).

Bronhiālās astmas slimniekiem nenovēroja būtiskas pārmaiņas urīnvielas attiecībā plazmas GPx aktivitātes ietekmē (sk. 24. att., sarkanie, $p=0,968$).



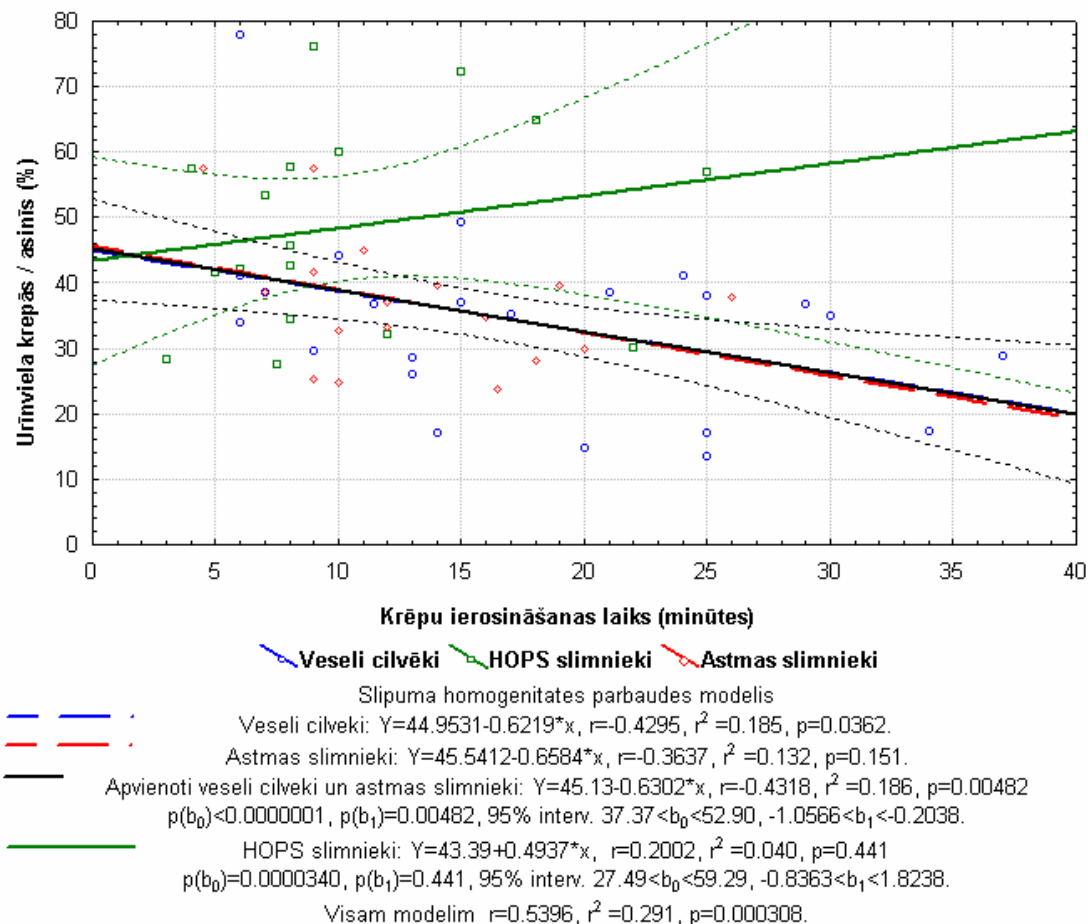
24. attēls. Asins plazmas glutaciona peroksidāzes aktivitātes ietekme uz urīnvielas relatīvo koncentrāciju ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas asins plazmā veselīem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Divfaktoru lineārās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Krēpu ierosināšanas laika ietekme uz urīnvielas attiecību

Tā kā, izmantojot divfaktoru LKASHP modeli gan veselīem cilvēkiem, gan astmas slimniekiem novēroja urīnvielas relatīvās koncentrācijas ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā mazināšanos, palielinoties krēpu ierosināšanas laikam (sk. 25. att. zila un sarkana pārtraukta līnija), bet nenovēroja būtiskas atšķirības starp veselo cilvēku un astmas slimnieku regresijas vienādojumiem (gan b_0 koeficienti neatšķīrās $p=0,949$, gan b_1 koeficienti neatšķīrās $p=0,950$), matemātiski abas šīs grupas var apvienot vienā grupā (apvienotā veselo cilvēku un astmas slimnieku grupā) un aprakstīt ar vienu regresijas vienādojumu (sk. 25. att. melnā nepārtrauktā līnija). Tāpēc var apgalvot, ka urīnvielas relatīvā koncentrācija ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā neatšķiras **veselīem**

cilvēkiem un astmas slimniekiem un krēpu ierosināšanas laikam pieaugot, vienādi būtiski mazinās $r^2=18,6\%$, $r=-0,43$, $p=0,0048$ (sk. 25. att. melnā nepārtrauktā līnija).

HOPS slimniekiem netika novērota būtiska krēpu ierosināšanas laika ietekme uz urīnvielas relatīvo koncentrāciju ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā (sk. 25. att. zaļie $p=0,441$).

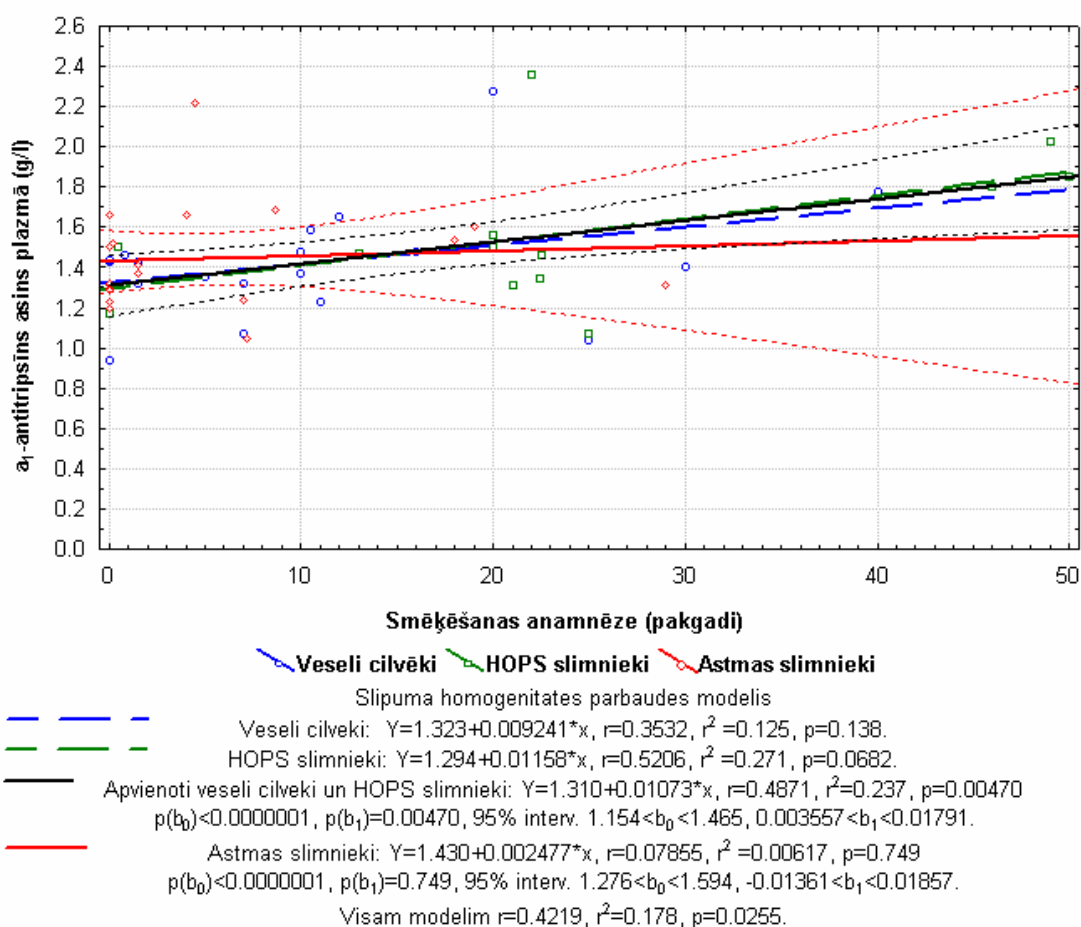


25. attēls. Krēpu ierosināšanas laika ietekme uz urīnvielas relatīvo koncentrāciju ierosinātās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas asins plazmā veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī kopā apvienotiem veseliem cilvēkiem un astmas slimniekiem. Ar pārtrauktām līnijām apzīmētas veselu cilvēku un astmas slimnieku grupas pirms apvienošanas, ar nepārtrauktām līnijām - izveidotais divfaktoru lineārās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētu līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

2.4. Smēķēšanas izraisītas alfa-1 antiproteāzes koncentrācijas pārmaiņas asins plazmā

Tā kā, izmantojot divfaktoru LKASHP modeli gan veseliem cilvēkiem, gan HOPS slimniekiem novēroja α_1 -antitripsīna koncentrācijas palielināšanos asins plazmā mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekmē (sk. 26. att. zila un zaļa pārtraukta līnija), bet nenovēroja būtiskas atšķirības starp veselo cilvēku un HOPS slimnieku regresijas vienādojumiem (gan b_0 koeficienti neatšķīrās $p=0,870$, gan b_1 koeficienti neatšķīrās $p=0,778$), matemātiski abas šīs grupas var apvienot vienā grupā (apvienotā veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupā) un aprakstīt ar vienu regresijas

vienādojumu (sk. 26. att. melnā nepārtrauktā līnija). Tāpēc var apgalvot, ka α_1 -antitripsīna koncentrācija plazmā neatšķiras **veselīem cilvēkiem** un **HOPS slimniekiem** un smēķēšanas stāžam pieaugot vienādi būtiski palielinās $r^2=23,7\%$, $r=0,487$, $p=0,0047$ (sk. 26. att. melnā nepārtrauktā līnija).



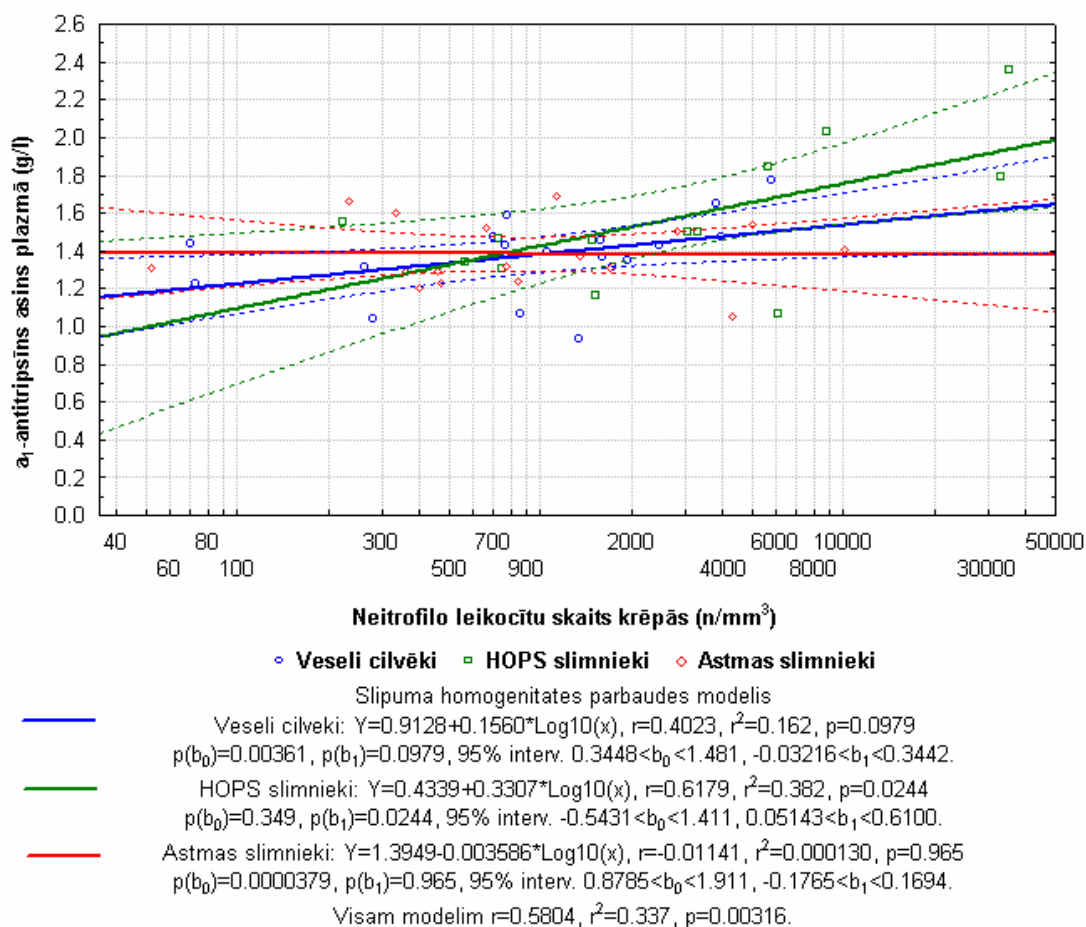
26. attēls. Smēķēšanas ietekme uz α_1 -antitripsīna koncentrāciju asins plazmā veselīem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem, kā arī kopā apvienotiem veselīem cilvēkiem un HOPS slimniekiem. Ar pārtrauktām līnijām apzīmētas veselu cilvēku un HOPS slimnieku grupas pirms apvienošanas, ar nepārtrauktām līnijām - izveidotais divfaktoru lineārās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētu līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Bronhiālās astmas slimniekiem netika novērota būtiska mūžā izsmēķētā tabakas daudzuma ietekme uz α_1 -antitripsīna koncentrāciju plazmā (sk. 26. att. sarkanie $p=0,749$).

Neitrofilo leukocītu skaita ierosinātās krēpās ietekme uz alfa-1 antitripsīna koncentrāciju asins plazmā

Izmantojot divfaktoru LGKASHP modeli, tika konstatēts, ka α_1 -antitripsīna koncentrācija plazmā būtiski pieaug palielinoties neitrofilo leukocītu skaitam krēpās **HOPS slimniekiem** $r^2=38,2\%$, $r=0,618$, $p=0,024$, bet **veselīem cilvēkiem** novērota tikai α_1 -antitripsīna koncentrācijas palielināšanās tendence $r^2=16,2\%$, $r=0,402$, $p=0,0979$ (sk. 27. att., zaļā un zilā līnija,).

Turpretī **astmas slimniekiem** nebija būtiskas plazmas α_1 -antitripsīna koncentrācijas pārmaiņas atkarībā no neitrofilo leukocītu absolūtā skaita ierosinātās krēpās (sk. 27. att., sarkanā līnija, $p=0,965$).

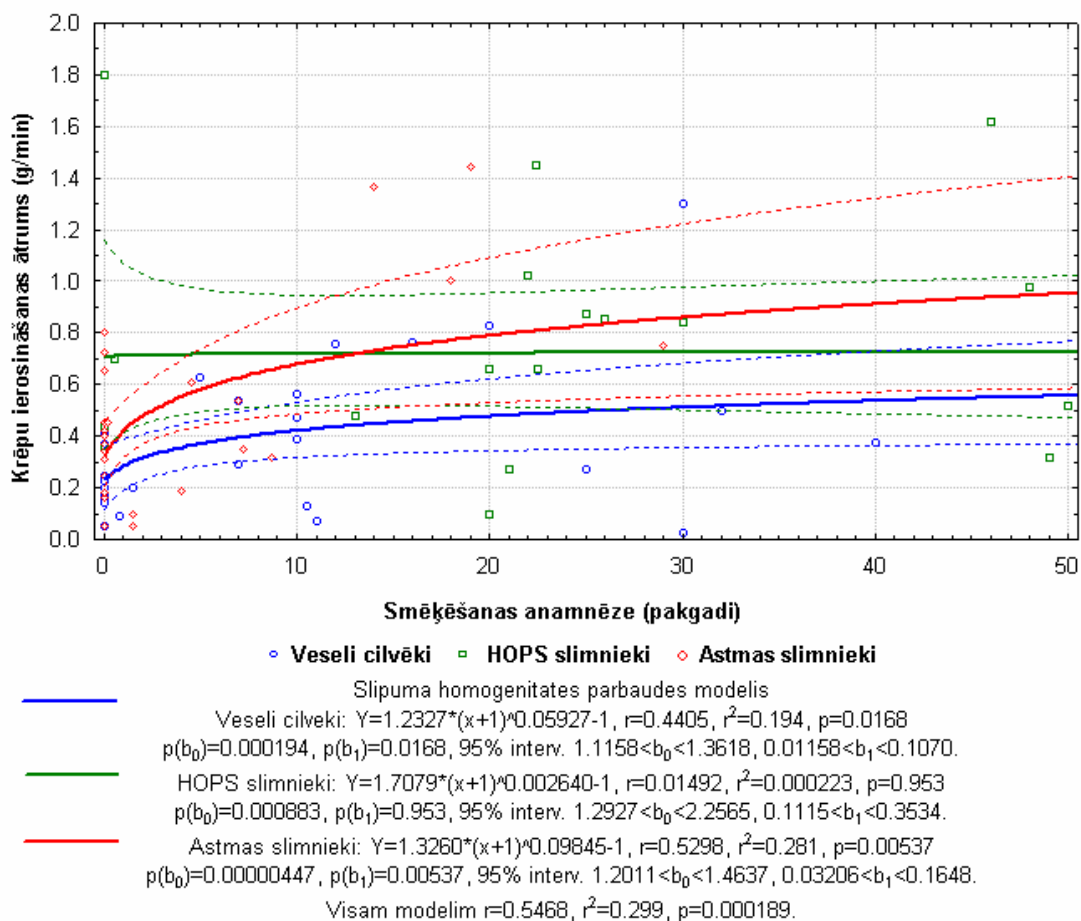


27. attēls. Neitrofilo leukocītu absolūtā skaita krēpās ietekme uz α_1 -antitripsīna koncentrāciju asins plazmā veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Divfaktoru logaritmiskās kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

3. Smēķēšanas izraisītas krēpu ierosināšanas ātruma pārmaiņas

Izmantojot divfaktoru PAKASHP modeli, tika konstatēts, ka krēpu ierosināšanas ātrums **HOPS slimniekiem** ir būtiski lielāks nekā **veseliem cilvēkiem** un **astmas slimniekiem** maza smēķēšanas stāža gadījumā ($p=0,010$, $p=0,049$ b_0 koeficientu atšķirības), bet smēķēšanas stāžam pieaugot būtiski palielinās **veseliem cilvēkiem** $r^2=19,4\%$, $r=0,441$, $p=0,017$, un **astmas slimniekiem** $r^2=28,1\%$, $r=0,530$, $p=0,00054$ (sk. 28. att., zaļie, zilie, sarkanie).

Turpretī **HOPS slimniekiem** mūžā izsmēķēto pakgažu skaits krēpu ierosināšanas ātrumu būtiski neietekmēja (sk. 28. att., zaļie, $p=0,953$).



28. attēls. Smēķēšanas ietekme uz krēpu ierosināšanas ātrumu veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem. Divfaktoru pakāpes kovariācijas analīzes slīpuma homogenitātes pārbaudes modelis. Ar punktētām līnijām apzīmētas šā modeļa regresiju 95% reprezentācijas zonas.

Diskusija

1. Citoloģiskie raksturlielumi

1.1. Bronhu epitēlijšūnas

Citi autori neatklāja ticamas atšķirības ierosināto krēpu un spontāno krēpu bronhu epitēlijšūnu relatīvajā skaitā starp veselu nesmēķētāju, bronhiālās astmas un HOPS slimnieku grupām [Vignola, 1998; Balzano, 1999; Gibson, 1989], lai gan atšķirībā no mūsu pētījuma arī starp veseliem nesmēķētājiem un veseliem smēķētājiem šie autori nenovēroja būtisku atšķirību [Vignola, 1998; Balzano, 1999]. Turpretī mūsu pētījumā, palielinoties izsmēķētajam tabakas daudzumam (pakgadiem), arī veseliem cilvēkiem mazinās bronhu epitēlijšūnu relatīvais skaits. Šī atšķirība iespējams skaidrojama ar to, ka iepriekš minētie autori dalīja veselus cilvēkus diskreti - smēķētājos un nesmēķētājos, neņemot vērā katra izsmēķētos pakgādus, tāpēc varēja stipri palielināties izkliede, turpretī mūsu pētījumā izsmēķētie pakgadi tika ņemti vērā par kovarianti. Tieši šis smēķēšanas faktors, nevis diagnoze, bija būtisks. Luis, R.E. u.c. 2002., savukārt norāda uz būtiski palielinātu bronhu epitēlijšūnu absolūto skaitu astmas slimnieku ierosinātās krēpās salīdzinājumā ar HOPS slimniekiem, bet tas astmas slimniekiem neatšķiras no veseliem cilvēkiem. Lai gan šai pētījumā viņi visās grupās bija iekļāvuši gan smēķētājus, gan nesmēķētājus, bet, neņemot vērā izsmēķētos pakgādus par kovarianti, šo atšķirību starp astmas un HOPS slimnieku grupām varbūt

var skaidrot ar atšķirīgo smēķējošo pacientu skaitu grupās un izsmēķēto pakgadu skaitu.

Mūsu pētījumā novēroto bronhu epitēlijšūnu absolūtā skaita mazināšanos visām trim pētītajām pacientu grupām un relatīvā skaita mazināšanos veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupai ierosinātās krēpās, palielinoties izsmēķēto pakgadu skaitam, var skaidrot ar vairākiem mehānismiem. Pirmkārt, smēķēšanas dēļ attīstās bronhu gļotu dziedzeru hiperplāzija [Maestrelli, 2001], palielinās kausšūnu skaits elpceļu epitēlijā [Ebert, 1975; Tos, 1983; Lumsden, 1984; Saetta, 2000; Maestrelli, 2001; Rennard, 2002; Riise, 1992; Spurzem, 1991; Wright, 2002], kā arī bronhu asinsvadu endotēlija un bronhu epitēlija caurlaidība [Vignola, 1998; Morrison, 1999; Rusznak, 2000], tāpēc pieaug gļotu producēšana un plazmas eksudācija [Maestrelli, 2001]. Tas savukārt palielina spontāno krēpu produkcēšanu un atklepošana, tāpēc nolibītās bronhu epitēlijšūnas tiek straujāk izvadītas no bronhiem, un to koncentrācija smēķētājiem ar lielu stāžu ierosinātās krēpās ir vājāka nekā nesmēķētājiem un mazsmēķētājiem. Otrkārt, smēķētājiem ar lielāku mūža izsmēķētās tabakas daudzumu (veseliem cilvēku un astmas slimniekiem), kā arī visiem HOPS slimniekiem mēs novērojām palielinātu krēpu ierosināšanas ātrumu, ko izskaidro pastiprinātā gļotu producēšana no gļotu dziedzeriem un kausšūnām, kā arī plazmas eksudācija, par ko liecina arī mūsu pētījumā konstatētā urīnvielas relatīvās koncentrācijas palielināšanās ierosinātās krēpās, pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam veseliem cilvēku un HOPS slimniekiem. Tāpēc, lai iegūtu nepieciešamo krēpu daudzumu (5 ml.), nepieciešams īsāks krēpu ierosināšanas laiks un hipertonskais sāls šķīdums (4% NaCl) iedarbojas īsāku laiku, kā arī, atšķaidoties ar gļotām, tas vājākā koncentrācijā iedarbojas uz bronhu epitēliju un mazāk to bojā. Treškārt, kā mēs novērojām, nesmēķētājiem pati krēpu ierosināšana izraisīja spēcīgu klepus lēkmi, kas bieži atkārtojās diezgan ilgajā krēpu ierosināšanā (līdz 30 min) un, iespējams, šā iemesla dēļ bronhu epitēlijs tika mehāniski bojāts. Tāpēc palielinājās tā izdalīšanās nesmēķētājiem, kas nav pieraduši pie tādām kairinošām vielām kā tabakas dūmi vai hipertonskais nātrija hlorīda šķīdums. Bez tam tieši nesmēķētāji sūdzējās par dedzinošu sajūtu bronhos pēc krēpu ierosināšanas.

1.2. Neitrofile leukocīti

Smēķēšana veicina neitrofilo iekaisumu bronhos ne tikai HOPS, bet arī bronhiālās astmas slimniekiem un smēķētājiem, kam nav elpceļu obstrukcijas, par ko liecina neitrofilo leukocītu absolūtā un relatīvā skaita pieaugums ierosinātās krēpās visām trim grupām smēķēšanas rezultātā. Smēķēšana veicina arī leukopoēzi kaulu smadzenēs visām pacientu grupām (veselo cilvēku, HOPS un astmas slimnieku), par ko liecina stabiņkodolaino leukocītu relatīvā un absolūtā skaita pieaugums venozajās asinīs smēķēšanas dēļ. Nesmēķējošiem HOPS slimniekiem un HOPS slimniekiem ar mazu smēķēšanas stāžu atšķirībā no astmas slimniekiem un cilvēkiem bez elpceļu obstrukcijas ar līdzīgu smēķēšanas anamnēzi ir intensīvāks neitrofilais iekaisums bronhos, kurš turpina pastiprināties, pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam. Par to liecina palielinātais neitrofilo leukocītu skaits HOPS slimnieku ierosinātās krēpās salīdzinājumā ar abām pārējām grupām, kurš turpina palielināties, pieaugot pakgadu skaitam. Tā kā asinīs stabiņkodolaino leukocītu absolūtais un relatīvais skaits veseliem cilvēkiem, HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem neatšķiras un smēķēšanas dēļ pieaug vienādi, bet ierosinātās krēpās HOPS slimniekiem neitrofilo leukocītu relatīvais un absolūtais skaits līdzīgas smēķēšanas anamnēzes gadījumā ir lielāks nekā abām pārējām grupām, jādodomā, ka to nosaka aizkavēta neitrofilo leukocītu apoptoze HOPS slimnieku bronhos. Bez tam par labu šai hipotēzei runā arī tas, ka neitrofilo leukocītu absolūtais skaits ierosinātās krēpās, palielinoties izsmēķēto pakgadu skaitam, pieaug

arvien ātrāk - eksponenciāli, kamēr stabiņkodolaino leukocītu skaits pieaug lineāri. Bez tam segmentkodolaino leukocītu absolūtais skaits asinīs arī pieaug lineāri un būtiski HOPS slimniekiem, astmas slimniekiem ir tikai pieauguma tendence, bet veseliem cilvēkiem vispār nemainās izsmēķēto pakgadu ietekmē. Arī Aoshiba 1994., 1996., 1999. norāda uz kavētu apoptozi HOPS slimnieku neitrofilajiem leukocītiem.

Arī citi autori norāda uz palielināto neitrofilo leukocītu absolūto un relatīvo skaitu ierosinātās krēpās HOPS slimniekiem salīdzinājumā ar veseliem nesmeķētājiem, veseliem smēķētājiem, un astmas slimniekiem, kā arī palielinātu neitrofilo leukocītu relatīvo un absolūto skaitu ierosinātās krēpās un BAL šķidrumā veseliem smēķētājiem, salīdzinot ar veseliem nesmeķētājiem [Balzano, 1999; Hamzaoui 1999; Keatings 1996; Rutgers, 2000; D. Morrison, 1999]. Tomēr, atšķirībā no iepriekš minētajiem autoriem, mēs nevis vienkārši salīdzinājām pacientu grupu aritmētiskos vidējos, bet ņēmām vērā katra pacienta smēķēšanas anamnēzi (mūžā izsmēķēto tabakas daudzumu pakgados) par kovarianti. Līdz ar to šī atšķirība vērojama pat nesmeķējošiem un mazsmēķējošiem pacientiem un labāk redzams smēķēšanas izraisīto izmaiņu raksturs neitrofilā iekaisuma gaitā katras mūsu pētītās slimības gadījumā.

1.3. Makrofāgi un monocīti

Mazinātais makrofāgu relatīvais skaits ierosinātās krēpās nesmeķējošiem un mazsmēķējošiem HOPS slimniekiem salīdzinājumā ar veselo cilvēku grupu ar līdzīgu smēķēšanas anamnēzi un makrofāgu relatīvā skaita mazināšanās visās trīs grupās, pieaugot nosmeķēto pakgadu skaitam, bet nemainoties makrofāgu absolūtajam skaitam ierosinātās krēpās, skaidrojams pamatā ar neitrofilo leukocītu relatīvā skaita pieaugumu ierosinātās krēpās. Pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam, neitrofilo leukocītu relatīvais skaits palielinās visās trīs grupās, bet HOPS slimniekiem jau ar mazu smēķēšanas stāžu tas ir lielāks. Bez tam tas, ka makrofāgu absolūtais skaits ierosinātās krēpās mūsu pētījumā neatšķīrās starp pētītajām grupām un nemainījās smēķēšanas dēļ, kā to norāda arī citi autori [Keatings, 1997], skaidrojams ar to, ka ierosinātās krēpas raksturo vairāk procesus lielākos bronhos, turpretī BAL - alveolās un sīkajos elpceļos. BAL, kā norāda citi autori, ir būtiski palielināts makrofāgu absolūtais skaits HOPS slimniekiem salīdzinājumā ar veseliem nesmeķētājiem un smēķētājiem [Maier, 1992; Shimura, 1999], kā arī palielināts smēķējošiem astmas slimniekiem un veseliem smēķētājiem salīdzinājumā ar veseliem nesmeķētājiem [Keatings, 1997; Kelly, 1988; Schaberg, 1995; Maier, 1992]. Arī mūsu pētījumā palielinātais monocītu absolūtais skaits HOPS slimnieku asinīs liecina par to pastiprinātu leukopoēzi kaulu smadzenēs kam seko migrācija uz elpceļiem un alveolām.

1.4. Eozinofīlie leukocīti

Citu autoru dati par eozinofīlo iekaisumu HOPS slimnieku elpceļos ir samērā pretrunīgi. Vieni konstatē būtiski palielinātu eozinofīlo leukocītu relatīvo un absolūto skaitu HOPS slimnieku ierosinātās krēpās salīdzinājumā ar veseliem nesmeķētājiem un smēķētājiem [Balzano, 1999; Fujimoto, 1999; Hamzaoui, 1999; Rutgers, 2000], un ir pat pētījums, kur šis skaits HOPS slimniekiem neatšķiras no astmas slimniekiem [Vignola, 1998; Louis, 2002]. Turpretī citos pētījumos novērots tikai neliels nebūtisks eozinofīlo leukocītu skaita palielinājums HOPS slimnieku ierosinātās krēpās salīdzinājumā ar veseliem nesmeķētājiem un smēķētājiem [Keatings, 1996; Kayembe, 1997; Vagaggini, 1996]. Šis pretrunas, iespējams, ir tāpēc, ka iepriekš minētie autori neņēma vērā katra pacienta izsmēķētos pakgadus jo, kā redzams no mūsu pētījuma, tieši izsmēķēto pakgadu skaitam ir būtiska ietekme uz HOPS slimnieku un veselu cilvēku eozinofīlo leukocītu skaitu ierosinātās krēpās. Pēc aptuveni 39 izsmēķētiem

pakgadiem visām pacientu grupām (veseli cilvēki, HOPS un astmas slimnieki) ir vienāds eozinofilo leukocītu absolūtais skaits ierosinātās krēpās, turpretī 0 pakgadu gadījumā veseliem cilvēkiem un HOPS slimniekiem tas ir krietni mazāks nekā astmas slimniekiem (sk. 10. att.).

Eozinofilo leukocītu skaita palielināšanos ierosinātās krēpās, bet nemainīšanos asinīs smēķēšanas dēļ veselo cilvēku un HOPS slimnieku grupā, iespējams, var skaidrot ar smēķēšanas izraisītu lokālu elpceļu iekaisumu, kas varbūt saistīts ar eozinofilo leukocītu apoptozes kavēšanu. Par to liecina arī HOPS slimnieku ierosinātās krēpās novērotā paaugstinātā TNF- α koncentrācija [Keatings, 1996] un hroniska bronhīta slimnieku biopsiju bronhu epitēlijšūnās un zemgļotādā novērotā palielinātā GM-CSF ekspresija salīdzinājumā ar veseliem nesmēķētājiem [Vignola, 1997], kas novērojumos *in vitro* reducē gan neitrofilo gan eozinofilo leukocītu apoptozi [Sampson, 2000; Zhang, 1996; Ramshaw, 2001].

Kā redzams, smēķēšana veicina eozinofilo iekaisumu elpceļos smēķētājiem bez elpceļu obstrukcijas un HOPS slimniekiem, pie kam, palielinoties smēķēšanas stāžam, šis process kļūst arvien straujāks, par ko liecina eozinofilo leukocītu relatīvā un absolūtā skaita pieaugums ierosinātās krēpās smēķēšanas dēļ abām grupām. Bronhiālās astmas slimniekiem vērojams eozinofils iekaisums elpceļos un smēķēšana neizraisa turpmāku eozinofilā iekaisuma pastiprināšanos. Par to liecina palielinātais un no smēķēšanas neatkarīgais relatīvais un absolūtais eozinofilo leukocītu skaits i ierosinātās krēpās. Bronhiālās astmas slimniekiem raksturīgs palielināts eozinofilo leukocītu relatīvais un absolūtais skaits venozajās asinīs, bet smēķēšana neietekmē šos raksturlielumus nevienā veselo cilvēku, HOPS un astmas slimnieku grupā, kas norāda uz lokālu smēķēšanas izraisītu eozinofilo iekaisumu plaušu audos, kurš, iespējams, saistīts ar eozinofilo leukocītu apoptozes kavēšanu smēķēšanas dēļ.

1.5. Limfocīti

Mūsu pētījumā atklātā limfocītu relatīvā skaita mazināšanās asinīs HOPS un astmas slimnieku grupai izsmēķēto pakgadu ietekmē, nemainoties limfocītu absolūtajam skaitam, domājams, notiek uz segmentkodolaino neitrofilo leukocītu relatīvā un absolūtā skaita palielināšanās rēķina asinīs, kas vērojama šīm slimnieku grupām izsmēķēto pakgadu ietekmē.

2. Bioķīmiskie raksturlielumi

2.1. Glutaciona peroksidāze

Palielināto GPx aktivitāti nesmēķējošiem un mazsmēķējošiem HOPS slimniekiem var skaidrot ar neitrofilo iekaisumu. Neitrofilā iekaisuma dēļ tiek pastiprināti izdalīti oksidanti [Dekhuijzen, 1996] un iekaisuma mediatori, piemēram, TNF- α , kas savukārt aktivē glutaciona un GPx sintēzi elpceļu epitēlijšūnās [Rahman, 1999; Comhair, 2001], alveolārajos makrofāgos un plaušu interstīcija šūnās [Avisar, 1996]. Kā liecina mūsu pētījuma rezultāti un arī literatūras dati arī nesmēķējošiem un mazsmēķējošiem HOPS slimniekiem ir palielināts neitrofilo leukocītu skaits ierosinātās krēpās, kurš turpina palielināties, pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam [Kayembe, 1997; Balzano, 1999; Hamzaoui, 1999; Peleman, 1999; Rutgers, 2000]. Šie neitrofilie leukocīti un arī makrofāgi ir aktivēti un pastiprināti izdala brīvos skābekļa un slāpekļa radikāļus [Bridges, 1985; Hill, 1999; Rahman, 1996; Swan, 1994; Greening, 1983; Hubbard, 1987], kas savukārt veicina pastiprinātu antioksidantu izdalīšanos no elpceļu epitēlijšūnām un citām šūnām [Rahman, 1999]. Palielinoties smēķēšanas stāžam, pieaug neitrofilo leukocītu iekaisums un elpceļu epitēlija bojājumi, kas, iespējams, mazina šo šūnu antioksidatīvo fermentu producēšanas spēju, vai arī

tabakas dūmos un iekaisuma dēļ palielinātais oksidantu daudzums straujāk degradē eGPx, tai intensīvāk iesaistoties redukcijas un oksidācijas reakcijās. Kā norāda Avisāra, pēc iedarbības ar ozonu būtiski kritās GPx aktivitāte un eGPx koncentrācija BAL epitēliju klājošajā šķidrumā. Viņa arī novēroja negatīvu korelāciju starp eGPx koncentrāciju un neitrofilo leukocītu skaitu BAL [Avisar, 2000]. Savukārt Komhērs novērojis palielinātu eGPx mRNS sintēzi elpceļu epitēlijšūnās un alveolārajos makrofāgos smēķētājiem. Arī *in vitro* bronhu epitēlijšūnās pēc iedarbības ar brīvajiem radikāļiem ticami palielinās eGPx mRNS ekspresija [Comhair, 2000]. Šo fenomenu drīzāk var skaidrot ar GPx inaktivāciju oksidantu ietekmē, par spīti tā pastiprinātai sintēzei elpceļu epitēlijšūnās, nekā ar pašas sinēzes mazināšanos epitēlijšūnās [Avisar, 2000]. Bez tam neitrofilo leukocītu izdalītie un tabakas dūmos esošie oksidanti palielina antioksidatīvās aizsardzības sistēmas aktivitātes nepieciešamību. Pastiprinātā oksidantu izdalīšanās un tabakas dūmos esošās dzelzs uzkrāšanās elpceļos var ierosināt lipīdu peroksidācijas ķēdes reakciju [Repine, 1997; Wesseliuss, 1994; Thompson, 1991; Bast, 1991; Halliwell, 1996], kas ir pašpastiprinošs process, tāpēc veidojas plašs lipīdu radikāļu spektrs [Bucala, 1996]. Arī šo lipīdu radikāļu neutralizācijai nepieciešama pastiprināta antioksidatīvās sistēmas aktivitāte, kur GPx, iespējams ir galvenā nozīme lipīdu peroksīdu neutralizācijā [Halliwell, 1996]. Tāpēc dubultās oksidatīvās slodzes dēļ HOPS slimniekiem antioksidatīvās aizsardzības sistēmas fermenti, piemēram, GPx iesaistās vairāk redukcijas un oksidācijas reakcijās un straujāk degradējas [Rahman, 1999; Avisar, 2000] nekā veseliem cilvēkiem un astmas slimniekiem. Iespējams, tāpēc HOPS slimniekiem sākumā palielinātā GPx aktivitāte ierosinātās krēpās strauji mazinājās, pieaugot smēķēšanas stāžam. GPx aktivitāte elpceļu klājošajā šķidrumā bija nepietiekama, lai aizsargātu plaušu audus no oksidatīviem bojājumiem, un pastiprināja iekaisumu, kas savukārt palielināja oksidatīvo slodzi [Rahman, 1999]. Elpceļu epitēlijšūnas un makrofāgi nespēj sintezēt tik daudz GPx, lai nodrošinātu tā pietiekamu aktivitāti epitēliju klājošajā šķidrumā. Par to netieši liecina mūsu novērotās GPx aktivitātes pārmaiņas HOPS slimnieku asins plazmā smēķēšanas ietekmē.

Asins plazmas GPx aktivitāte HOPS slimnieku grupā būtiski palielinājās, pieaugot izsmēķēto pakgažu skaitam. Savukārt veselo cilvēku un astmas slimnieku grupā netika konstatēta ticama izsmēķēto pakgažu ietekme uz plazmas GPx aktivitāti. To var skaidrot ar ģeneralizētu organisma antioksidatīvās aizsardzības sistēmas atbildreakciju uz palielinātu oksidatīvo slodzi HOPS slimniekiem. Tā tomēr ir nepietiekama, lai aizsargātu plaušu audus no oksidatīvā stresa. Par galveno plazmas ekstracelulārās GPx avotu tiek uzskatītas nieru proksimālo kanāliņu šūnas [Avisar, 1994]. Iespējams, arī plaušu audos pastiprināti sintezējas GPx [Rahman, 1999; Comhair, 2000], bet, tā kā šie audi ir tiešā saskarē ar oksidantu avotiem, GPx straujāk degradējas un HOPS slimniekiem novērojām pretēju procesu - GPx aktivitātes krišanos. Pie tam tā HOPS slimnieku ierosinātās krēpās, pieaugot smēķēšanas stāžam, notiek vienlaikus ar mūsu konstatēto elpceļu epitēlija caurlaidības un plazmas transudācijas palielināšanos. Par to liecina urīnvielas relatīvās koncentrācijas krēpās pret koncentrāciju asinīs pieaugums smēķēšanas ietekmē (sk. 22. att. un 2.4. apakšnodaļu: "Urīnviela" Diskusijas daļā) un GPx aktivitātes palielināšanās plazmā, kur GPx aktivitāte ir vairākas reizes lielāka nekā krēpās. Arī Avisāra norāda uz GPx aktivitātes krišanos elpceļu klājošajā šķidrumā ozona ietekmē, par spīti palielinātai plazmas caurlaidībai ozona ietekmē un lielākai plazmas GPx aktivitātei nekā epitēliju klājošajā šķidrumā [Avisar, 2000]. Lai arī Avisāra pētīja veselus nesmēķētājus, tomēr tāda spēcīga oksidanta inhalācija kā ozons, kas izraisa neitrofilo iekaisumu un oksidatīvo stresu [Avisar, 2000], iespējams, var izmantot par

modeli HOPS oksidatīvā stresa pētījumiem. Mūsu GPx aktivitātes pētījums HOPS slimnieku ierosinātās krēpās varbūt ir viens no pirmajiem, jo mums pieejamā literatūrā neizdevās atrast citus pētījumus, kur būtu noteikta GPx aktivitāte ierosinātās krēpās HOPS slimniekiem. Savukārt, salīdzinot GPx aktivitāti elpceļus klājošajā šķidrumā no BAL veseliem smēķētājiem un nesmēķētājiem, arī citi autori nenovēroja būtiskas atšķirības [Comhair, 1999]. Tas saskan ar mūsu datiem, kur izsmēķēto pakgadu skaits neietekmēja GPx aktivitāti ierosinātās krēpās veseliem cilvēkiem.

GPx aktivitātes palielināšanos bronhiālās astmas slimnieku asins plazmā palielināta asins monocītu un limfocītu skaita gadījumā, kā arī šo šūnu mijiedarbību varbūt var skaidrot ar imūniekaisumā iesaistīto šūnu izdalīto mediatoru ietekmi uz oksidantus un/vai antioksidantus producējošām šūnām. Precīzāk šo procesu skaidrot ir grūti, jo netika noteiktas limfocītu subpopulācijas un to sintezētās signālmolekulas. Bez tam arī paši monocīti un limfocīti var izdalīt oksidantus [Hamulati, 1998; Vachier, 1992]. Aktivēti astmas slimnieku asins monocīti izdala vairāk ūdeņraža peroksīda un kopējo brīvo radikāļu nekā veselu cilvēku monocīti [Vachier, 1992].

Apkopojot iepriekš minēto, var secināt, ka nesmēķējošiem un mazsmēķējošiem HOPS slimniekiem ir pastiprināta GPx aktivitāte ierosinātās krēpās, ko var skaidrot ar pastiprinātu GPx sintēzi bronhu epitēlijšūnās un citās šūnās, atbildot uz neitrofilo leukocītu iekaisuma izraisītu pastiprinātu oksidantu izdalīšanos no šīm šūnām un lipīdu peroksidācijas ķēdes reakcijās veidoto lipīdu hidroperoksīdu pastiprinātu veidošanos. Savukārt, pieaugot smēķēšanas stāžam, šī GPx aktivitāte HOPS slimnieku krēpās krītas. Šīs parādības cēlonis varētu būt pastiprināta GPx degradācija, tai pastiprināti iesaistoties oksidācijas un redukcijas reakcijās papildu oksidatīvās slodzes ietekmē, ko izraisa tabakas dūmos esošie oksidanti un arvien lielāks daudzums lipīdu peroksīdu. GPx aktivitātes mazināšanos varētu izraisīt arī palielinātie epitēlijšūnu un citu GPx producējošo šūnu bojājumi, kas, iespējams, mazina to spēju sintezēt GPx pastiprinātās oksidatīvās slodzes apstākļos. Plazmā novēro GPx aktivitātes pieaugumu HOPS slimniekiem, pieaugot smēķēšanas stāžam, ko var skaidrot ar ģeneralizētu organisma antioksidatīvās aizsardzības sistēmas atbildreakciju uz palielinātu oksidatīvo slodzi HOPS slimniekiem, kas tomēr ir nepietiekama, lai aizsargātu plaušu audus no oksidatīvā stresa. Savukārt bronhiālās astmas slimniekiem ir, pozitīva asins monocītu un limfocītu absolūtā skaita ietekmi uz plazmas GPx aktivitāti, bet monocītu un limfocītu mijiedarbības ietekme ir negatīva. To, iespējams, var skaidrot ar šo imūniekaisumā iesaistīto šūnu izdalīto mediatoru ietekmi uz oksidantus un/vai antioksidantus producējošām šūnām.

2.2. Katalāze

Katalāzes aktivitātes pastiprināšanos, palielinoties krēpu neitrofilo un eozinofilo leukocītu skaitam, HOPS slimnieku grupā var skaidrot ar intensīvu oksidantu, arī ūdeņraža peroksīda, izdalīšanos no šīm šūnām [Keatings, 1997; Pesci, 1998]. Daļu no tiem SOD pārvērš ūdeņraža peroksīdā, kas savukārt ir CAT substrāts [Cantin, 1990; Bucala, 1996]. Bez tam ūdeņraža peroksīds, reaģējot ar hlora jonu, neitrofilo leukocītu MPO ietekmē var veidot hipohlorskābi, kas ir spēcīgs oksidants [Bast, 1991; Halliwell, 1996; Heffner, 1989]. Arī veselo cilvēku grupā novēroja CAT aktivitātes palielināšanos, pieaugot neitrofilo leukocītu skaitam ierosinātās krēpās, bet mazāk izteiktu nekā HOPS slimnieku grupā, turpretī nebija ticama saistība ar eozinofilo leukocītu skaitu krēpās. To var skaidrot ar iespējami vājāku neitrofilo un īpaši eozinofilo leukocītu aktivitāti veselo cilvēku grupā, jo smēķēšanas dēļ gan veseliem cilvēkiem, gan HOPS slimniekiem eozinofilo leukocītu skaits pieaug vienādi. Lai gan smēķēšanas dēļ arī veseliem cilvēkiem pieaug neitrofilo leukocītu oksidatīvā aktivitāte [Bridges, 1985; Ludwig, 1982], bet, iespējams, mazāk nekā

HOPS gadījumā. Tas arī var būt saistīts ar vājāku CAT aktivitāti HOPS slimniekiem, salīdzinot ar veselīgiem cilvēkiem un astmas slimniekiem, ja matemātiski izslēgta pārējo faktoru (neitrofilo leukocītu, GPx un substrāta oksidējamības) ietekme. Tādējādi HOPS slimniekiem CAT aktivitāte šo trīs faktoru ietekmē palielinās no sākotnēji zemāka līmeņa. Savukārt astmas slimnieku grupā galvenais CAT aktivitāti palielinošais faktors bija eozinofilo leukocītu skaits ierosinātās krēpās, kuram bija daudz lielāka ietekme uz CAT aktivitāti nekā HOPS slimnieku grupā. To var skaidrot ar eozinofilā iekaisuma dominēšanu astmas slimniekiem. Kā zināms, aktivēti eozinofīlie leukocīti var izdalīt pat vairāk oksidantu nekā neitrofilie leukocīti [Mabuchi, 1992; Sedgwick, 1988; Zoratti, 1991]. Turpretī, limfocītu skaitam palielinoties, CAT aktivitātes mazināšanos astmas slimnieku grupai acīmredzot var skaidrot ar limfocītu izraisītu eozinofilo leukocītu oksidatīvās aktivitātes mazināšanos vai CAT producēšanas mazināšanos no to producējošām šūnām limfocītu izdalīto mediatoru ietekmē. CAT aktivitātes pastiprināšanos, palielinoties GPx aktivitātei krēpu supernatantā, novēroja tikai HOPS slimnieku grupā. Kā zināms, katalāze, līdzīgi kā glutathiona red ukcijas un oksidācijas sistēma izmanto vienu un to pašu substrātu - ūdeņraža peroksīdu, to padarot neaktīvu, pārvēršot par ūdeni. Acīmredzot abiem šiem fermentiem ir kopēja redukcijas un oksidācijas atkarīga gēnu ekspresijas regulācija. Par to liecina arī citu autoru novērotās CAT un GPx aktivitātes un ekspresijas līdzīgās pārmaiņas, kas ir pretējas SOD aktivitātes un ekspresijas pārmaiņām [Comhair, 2001; Filip, 1999; Tho, 1987]. Tomēr atšķirībā no katalāzes, glutathiona redukcijas un oksidācijas sistēma ir spējīga inaktivēt arī lipīdu hidroperoksīdus, tos reducējot [Halliwell, 1993; Halliwell, 1996]. Smēķēšanas stāžam pieaugot, iespējams, papildu oksidatīvās slodzes dēļ, iesaistoties redukcijas un oksidācijas reakcijās ar lipīdu peroksīdiem, par spīti GPx, pastiprinātai izdalīšanai asins plazmā, GPx aktivitāte krēpās mazinās. Turpretī CAT nepiedalās lipīdu peroksīdu inaktivācijā. Tāpēc atšķirībā no GPx, kuras aktivitāte krēpās mazinājās, CAT aktivitāte palielinājās, atbildot uz neitrofilo un eozinofilo leukocītu vai citu fermentu veidotā ūdeņraža peroksīda pieaugumu krēpās. Kā zināms, SOD inaktivē daudz aktīvākus brīvos radikāļus, piemēram, superoksīda anjonu, to pārvēršot mazāk aktīvajā ūdeņraža peroksīdā, kas savukārt ir CAT un GPx substrāts [Bucala, 1996]. CAT aktivitātes pastiprināšanos, palielinoties substrāta oksidējamībai, HOPS slimnieku grupā var skaidrot ar kompensatorisku mehānismu kā atbildreakciju uz kopēju antioksidatīvās aizsardzības sistēmas vājināšanos krēpu supernatantā. Substrāta oksidējamība raksturo kopējo antioksidatīvās sistēmas aktivitāti (gan enzimatisko, gan neenzimatisko). Jo lielāka substrāta oksidējamība, jo vājāka kopējā antioksidatīvā aizsardzība. Tieši HOPS slimnieku grupā tā bija visvājākā (sk. 2.3. apakšnodaļu "Substrāta oksidējamība" Diskusijas nodaļā). Vājinātā kopējā antioksidatīvā aizsardzība, par spīti CAT aktivitātes pieaugumam, iespējams, saistīta ar kāda mūsu pētījumā neiekļauta antioksidanta deficītu HOPS slimnieku grupā. Tā varētu būt kāda SOD vai arī kāds neenzimātisks antioksidants. Piemēram, citi autori norāda uz vājinātu SOD aktivitāti smēķētājiem salīdzinājumā ar nesmēķētājiem un astmas slimniekiem BAL [DiSilvestro, 1998; Comhair, 1999], kas HOPS slimniekiem varbūt ir vēl vājāka.

Varam secināt, ka gan veselīgiem cilvēkiem, gan īpaši HOPS slimniekiem katalāzes aktivitāte palielinās, pieaugot smēķēšanas izraisītam neitrofilam iekaisumam, ko rada neitrofilo leukocītu izdalītie oksidanti. HOPS slimniekiem visstiprāko katalāzes aktivitātes palielināšanos, pieaugot neitrofilo leukocītu skaitam, var skaidrot ar vājāku katalāzes aktivitāti HOPS slimniekiem nekā veselīgiem cilvēkiem un astmas slimniekiem, ja izslēgta pārējo faktoru (neitrofilo leukocītu, GPx un

substrāta oksidējamības) ietekme. Bronhiālās astmas slimniekiem katalāzes aktivitāte pieaug, palielinoties eozinofilo leukocītu izraisītajam iekaisumam plaušās, kas ir atbildreakcija uz šo šūnu izdalītajiem oksidantiem. Limfocītu skaita palielināšanās krēpās savukārt mazina katalāzes aktivitāti. Varbūt vainīga ir to kavējošā ietekme uz oksidantu izdalīšanos no eozinofiliem leukocītiem, vai katalāzi producējošām šūnām. Arī HOPS slimniekiem vērojama krēpu eozinofilo leukocītu skaita ietekme uz katalāzes aktivitāti, bet tā ir mazāk izteikta nekā astmas slimniekiem, jo eozinofilā iekaisuma komponente HOPS slimnieku elpceļos ir mazāk spilgta. Bez tam HOPS slimniekiem CAT aktivitātes palielināšanās saistība ar GPx aktivitātes palielināšanos elpceļos, iespējams, saistīta ar līdzīga substrāta izmantošanu šiem abiem fermentiem, kā arī ar savstarpēji saistītu to sintēzes oksidantatkarīgu regulāciju. Katalāzes aktivitāte HOPS slimnieku elpceļos atkarīga no kopējās antioksidatīvās aizsardzības sistēmas aktivitātes. Jo vājāka kopējā antioksidatīvā aizsardzība, jo lielāka CAT aktivitāte. To var skaidrot ar vājinātu kāda cita mūsu pētījumā neiekļauta antioksidanta aktivitāti.

Tā kā mums neizdevās atrast citu autoru rakstus par katalāzes aktivitāti ierosināto krēpu supernatantā, mūsu darbs, iespējams, ir pirmais ekstracelulāras katalāzes aktivitātes pētījums ierosinātās krēpās HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem.

2.3. Substrāta oksidējamība

Palielināto substrāta oksidējamību HOPS slimnieku krēpu supernatantā, bet nemainīto substrāta oksidējamību plazmā var skaidrot ar lokālu oksidantu iedarbību plaušu audos, kur kopējā antioksidantu aktivitāte HOPS slimniekiem ir vājināta un nepietiekama, lai tos aizsargātu pret paaugstināto oksidatīvo stresu, turpretī plazmā kopējā antioksidatīvā aizsardzība ir pietiekama. Neadaudz nebūtiski palielināto substrāta oksidējamību astmas slimniekiem arī var skaidrot ar nedaudz vājināto antioksidatīvo aizsardzību, bet šī samazināšanās ir vājāk izteikta, nekā HOPS slimniekiem. Vājināto kopējo antioksidatīvo aizsardzību HOPS slimnieku grupā, iespējams var skaidrot ar palielinātā oksidantu daudzuma [Dekhuijzen, 1996 #148] izraisītu pastiprinātu antioksidantu iesaistīšanos oksidācijas un redukcijas reakcijās, tāpēc tie straujāk degradējas [Rahman, 1999;Avissar, 2000], un pat pie pastiprināta antioksidantu (CAT, iespējams GPx uc.) izdalīšanās no elpceļu epiteliocītiem un citām šūnām, šī antioksidatīvā aizsardzība izrādās nepietiekama. Arī citi autori norāda uz pastiprinātu oksidantu izdalīšanos [Dekhuijzen, 1996;Paredi, 2000;Kanazawa, 1998], palielinātu oksidācijas produktu izdalīšanos no HOPS slimnieku elpceļiem un vājinātu kopējo antioksidatīvo aizsardzību HOPS slimnieku plaušās [Paredi, 2000]. Bez tam, iespējams, ka vājinātā antioksidatīvā aizsardzība ir tādām, diemžēl mūsu pētījumā neiekļautam, fermentem kā SOD vai arī neenzimātiskajiem antioksidantiem, kurus mēs nenoteicām. Tas, ka mums neizdevās atrast ticamu saistību starp substrāta oksidējamību krēpās un smēķēšanu, neitrofilo leukocītu skaitu un citām oksidantus producējošām šūnām, kā arī pati atšķirība substrāta oksidējamībai starp HOPS slimnieku un veselo cilvēku grupu bija tikai tendence ($p=0,0537$), skaidrojams ar pašu substrāta oksidējamību kā ļoti vispārīgu raksturlielumu, kas atkarīgs no visa antioksidantu (gan ezimātisko, gan neenzimātisko) kopuma, kā arī no oksidējamā substrāta daudzuma un īpašībām. Bez tam arī oksidantu avotu, kas varētu, pastiprināti izdalot oksidantus, degradēt dažādos antioksidantus, kā arī aktivēt to sintēzi, ir samērā daudz. Lai visus tos iekļautu daudzfaktoru kovariācijas vai regresijas analīzē, nepieciešams krietni palielināt paraugkopas apjomu.

Varam secināt, ka HOPS slimniekiem ir tendence uz vājinātu kopējo antioksidatīvo aizsardzību ierosinātās krēpās, bet nav vājināta kopējā antioksidatīvā

aizsardzība asins plazmā, kas norāda uz lokālu pastiprinātas oksidatīvās slodzes izraisītu kopēju antioksidantu aktivitātes mazināšanos plaušās HOPS slimniekiem.

2.4. Urīnviela

Mēs elpceļu epitēlija caurlaidības raksturošanai izmantojām samērā maz pētītu raksturlirlumu urīnvielas koncentrāciju ierosināto krēpu supernatantā. Tā kā urīnviela neveidojas plaušu audos, bet tiek atnesta ar asinīm no aknām, bet asinīs tās koncentrācija katram indivīdam var variēt atkarībā no dažādiem faktoriem, mēs noteicām arī urīnvielas koncentrāciju asins plazmā. Pēc tam urīnvielas koncentrācija ierosinātās krēpās tika izteikta kā urīnvielas relatīva koncentrācija krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā.

Palielināto urīnvielas relatīvo koncentrāciju krēpās nesmēķējošiem un mazsmēķējošiem astmas un HOPS slimniekiem salīdzinājumā ar veseliem cilvēkiem ar līdzīgu smēķēšanas stāžu var skaidrot ar iekaisuma izraisītu, visticamāk, elpceļu epitēlija caurlaidības palielināšanos tā bojājuma dēļ. Arī citi autori norāda, ka urīnvielas ieplūšana BAL šķīdumā saistīta ar elpceļu epitēlija caurlaidības palielināšanos tā bojājuma dēļ [Schmekel, 1995; Nocker, 1999; Avissar, 2000]. Bez tam cigarešu dūmu ietekmē, pieaugot smēķēšanas stāžam, šī caurlaidība palielinās vienādi strauji gan HOPS slimniekiem, gan veseliem cilvēkiem, kaut arī veseliem cilvēkiem no sākotnēji zemāka līmeņa. Tas norāda, ka arī veseliem cilvēkiem smēķēšanas dēļ palielinās epitēlija caurlaidība. Arī Avisārs BAL pētījumos norāda uz urīnvielas caurlaidības palielināšanos veselu cilvēku elpceļu epitēlija pēc iedarbības ar tādu oksidantu kā ozons [Avissar, 2000]. Turpretī astmas slimniekiem palielinātā epitēlija caurlaidība nemainās no smēķēšanas anamnēzes, kas ir samērā grūti skaidrojama. Uz elpceļu epitēlija un endotēlija caurlaidības palielināšanos tabakas dūmu ietekmē norāda albumīna palielināta koncentrācija smēķētāju ierosinātās krēpās un BAL [Vignola, 1998; Morrison, 1999], kā arī mazinātais inhalēta tehnēcija (^{99m}Tc-DTPA) pusizskalošanās periods smēķētājiem [Morrison, 1999]. Arī pētījumos *in vitro* novērota būtiska bronhu epitēlija kultūras caurlaidības palielināšanās pēc iedarbības ar tabakas dūmiem. Pie kam vislielākā tā ir kultūrās, kas iegūtas no HOPS slimniekiem, vidēja - no veseliem nesmēķētājiem, bet vismazākā - no veseliem smēķētājiem [Rusznak, 2000]. Tomēr ir arī pretēji vērojumi. Piemēram, Šmekele nekonstatē ticamu atšķirību urīnvielas koncentrācijā BAL un urīnvielas BAL/plazma attiecībā starp veselu nesmēķētāju un smēķētāju grupām [Schmekel, 1995]. Acīmredzot atšķirībā no mūsu pētījuma smēķēšanas anamnēze netika ņemta vērā kā kovariante, bez tam BAL gadījumā iespējama lielāka atšķaidījumu variācija, tāpēc iespējama lielāka datu izkliede. Tomēr skaidrot urīnvielas relatīvās koncentrācijas pārmaiņas tikai atkarībā no smēķēšanas un diagnozes būtu nekorekti, jo urīnvielas koncentrācijas atšķirību starp asinīm un ierosinātām krēpām var ietekmēt vairāki faktori, ne tikai endotēlija un epitēlija caurlaidība, kas līdz ar to ir ļoti komplicēts process.

Viens no tādiem faktoriem varētu būt krēpu ierosināšanas laiks - cik ilgi tika inhalēts hipertoniskais nātrija hlorīda 4% šķīdums. Mūsu pētījumā, lai iegūtu nepieciešamo krēpu daudzumu (aptuveni 5 ml), katram cilvēkam bija atšķirīgs ierosināšanas laiks (3 - 30 min) un veselo cilvēku grupā līdz pat 37 min. Kaut arī tikai nedaudz hipertoniskā sāls šķīduma, ko izsmidzina ultraskaņas inhalators (ražība 2,5 ml/min), paliek plaušās, iespējama krēpu un arī tur esošās urīnvielas atšķaidīšanās ar šo šķīdumu. Kā zināms no mūsu iepriekšējiem pētījumiem, kas veikti, izmantojot sprauslas inhalatorus, šī daļa variē atkarībā no inhalatora modeļa un cilvēka individualitātes. Piemēram, lietojot Pari-provo II inhalatoru un izmantojot brīvās elpošanas sistēmu, tikai 6,4% izsmidzinātā šķīduma paliek plaušās [Taivans, 2004].

Ar mūsu izmantoto ultraskaņas inhalatoru mēs nenoteicām izsmidzinātā aerosola sadalījumu starp pacienta augšējiem elpceļiem, plaušām, izelpu un inhalatora vārstu sistēmā palikušo daļu, kā ar sprauslas inhalatoru. Tomēr, kā zināms, ultraskaņas inhalatoriem ir daudz augstāka izsmidzināto daļiņu dispersijas pakāpe un tāpēc lielāka aerosola daļa tiek izelpota un mazāka daļa var palikt plaušās. Bez tam ir vēl otrs faktors, kas var ietekmēt urīnvielas atšķaidījumu. Tā kā krēpu ierosināšanai tiek lietots hipertonsisks sāls šķīdums, osmozes ietekmē no bronhu epitēlijšūnām, interstīcija un asinīm var difundēt ūdens, atšķaidot krēpās esošo urīnvielu. Tomēr arī urīnviela var difundēt no asinīm un interstīcija, kaut arī, iespējams, lēnāk, jo lielāka molekulmasa. Efross žurku plaušas perfuzēja ar radioaktīvi iezīmēta ūdens (^3HOH) un urīnvielas (^{14}C -urīnviela) maisījumu un atklāja, ka urīnvielas pārvietošanās no asinsrites uz elpceļiem ir būtiski lēnāka nekā ūdenim [Effros, 1992]. Tomēr, kā viņš norāda, urīnvielas (^{14}C -urīnviela) daudz lēnāko koncentrācijas palielināšanos savāktajā elpceļu šķīdumā salīdzinājumā ar ūdens (^3HOH) koncentrācijas pieaugumu nevar skaidrot tikai ar brīvas difūzijas ātruma atšķirību, ar kādu šīs vielas difundē šķīdumā [Effros, 1992]. Relatīvais ātrums, ar kādu molekulas līdz 100 D molekulmasas difundē ūdensvidē, ir proporcionāls kvadrātsaknei no to molekulmasas [Sietsema, 1986]. No tā izriet, ka ^3HOH (20 D) difundē tikai par 70% ātrāk nekā ^{14}C -urīnviela (62D), turpretī pētījumā ^3HOH koncentrācija elpceļos bija par divām kārtām lielāka nekā ^{14}C -urīnvielai [Effros, 1992]. Tas norāda uz daļēji selektīvu difūziju (daļēju osmozi) attiecībā uz urīnvielau - daļēji caurlaidīga barjera urīnvielai [Rennard, 1986; Effros, 1992; Schmekel, 1995]. Šī difūzija savukārt varētu būt saistīta ar endotēlija un epitēlija caurlaidību. Kā norāda Efross, pēc 2 min perfūzijas ^{14}C -urīnvielas koncentrācija žurku elpceļos ir mazāka par 2% perfuzāta koncentrācijas, bet plaušu interstīcijā un šūnās ^{14}C -urīnvielas koncentrācija šai laikā jau līdzsvarā koncentrācijai perfuzātā [Effros, 1992]. Tāpēc var secināt, ka elpceļu epitēlijs, kā arī tā šūnu membrāna ir slikti caurlaidīga urīnvielai salīdzinājumā ar endotēliju un citu plaušu šūnu membrānām [Cua, 1990; Taylor, 1970; Effros, 1992]. Savukārt eksperimenti ar tiourīnvielu (urīnvielas transportproteīnu blokatoru), norāda, ka šīs endotēlija un epitēlija caurlaidības atšķirības nav saistītas ar specifisko urīnvielas pārnesi, jo šī pārnese netika novērota plaušu audos vispār [Effros, 1992].

Urīnvielas relatīvās koncentrācijas nemainīšanos HOPS slimniekiem, palielinoties krēpu ierosināšanas laikam, vairāk atšķaidoties epitēliju klājošajam šķīdumam ar inhalēto hipertonsisko šķīdumu un, iespējams, tā paaugstinātās osmolaritātes dēļ iesūkto ūdeni no apkārtējiem audiem, var skaidrot ar palielinātu elpceļu epitēlija urīnvielas caurlaidību. Kā iepriekš minēts, galvenā urīnvielas difūziju ierobežojošā barjera plaušās ir elpceļu epitēlijs. Palielinātu epitēlija caurlaidību var skaidrot ar nolobītu elpceļu epitēliju, spraugu atvēršanās starp epitēlijšūnām, bojātām vai pārveidotām epitēlijšūnām, kuru membrāna kļuvusi caurlaidīgāka urīnvielai, kā arī, iespējams, aktīvāku gļotu dziedzeru darbību un urīnvielas caurlaidības palielināšanos šajos dziedzeros. Savukārt veselo cilvēku un astmas slimnieku grupās novēroto urīnvielas relatīvās koncentrācijas mazināšanos, pieaugot krēpu ierosināšanas laikam, var skaidrot ar epitēliju klājošā šķīduma atšķaidīšanos ar inhalēto šķīdumu un papildus iesūkto šķīdumu no plaušu audiem, kur urīnvielas difūzija ir daļēji apgrūtināta. Ja veselu cilvēku grupā to varētu skaidrot ar nebojātu elpceļu epitēliju, tad bronhiālās astmas gadījumā, kā zināms, ir bojāts elpceļu epitēlijs [Laitinen, 1985; Ollerenshaw, 1992; Carroll, 1993]. Tāpēc astmas slimniekiem atšķirībā no mūsu novērotās urīnvielas relatīvās koncentrācijas mazināšanās, tāpat kā HOPS gadījumā, nevajadzētu mainīties urīnvielas relatīvajai koncentrācijai, pieaugot krēpu ierosināšanas laikam. Šo paradoksu, iespējams, var skaidrot ar elpceļu bazālās

membrānas sabiezēšanu, kas atšķirībā no HOPS vairāk raksturīga tieši bronhiālās astmas gadījumā [Cutz, 1978;Dunnill, 1969;Ollerenshaw, 1992;Clark, 2002;Kuwano, 1993]. Iespējams, tieši šī sabiezinātā bazālā membrāna astmas gadījumā ir galvenais urīnvielas difūziju ierobežojošais faktors.

Savukārt veselu cilvēku grupā elpceļu epitēlija caurlaidība ir mazāka nekā HOPS slimnieku grupā, tomēr tā palielinās, pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam. Tomēr veselo cilvēku grupā atšķirībā no astmas un HOPS slimnieku grupām šī datu interpretācija ir sarežģītāka, nekā sākumā var šķist. Veselu cilvēku grupā urīnvielas relatīvo koncentrāciju, kā redzējam iepriekš, būtiski ietekmē abi faktori - gan smēķēšanas anamnēze, gan krēpu ierosināšanas laiks. Savukārt izsmēķēto pakgadu skaitam, kaut arī nebūtiski, ir tendence ietekmēt krēpu ierosināšanas laiku ($p=0,103$). Proti, jo vairāk pakgadu izsmēķēts, jo mazāks nepieciešamais krēpu ierosināšanas laiks. Šā iemesla dēļ veicām divas atsevišķas iepriekš aplūkotās regresijas analīzes – urīnvielas relatīvā koncentrācija atkarībā no smēķēšanas anamnēzes un urīnvielas relatīvā koncentrācija atkarībā no krēpu ierosināšanas laika, nevis vienu apvienotu analīzi ar abiem šiem ietekmējošiem faktoriem, jo starp neatkarīgiem (ietekmējošiem) faktoriem nedrīkst būt savstarpēja korelācija. Tomēr, ja šos abus faktoros iekļauj modelī, optimālais variants ir, ja tajā iekļauj gan krēpu ierosināšanas laiku, gan smēķēšanas un krēpu ierosināšanas laika mijiedarbību. Aprēķinot egūst, ka gan krēpu ierosināšanas laika ietekme ir būtiska ($p=0,023$), gan smēķēšanas un krēpu ierosināšanas laika mijiedarbībai ir ietekmes tendence uz urīnvielas relatīvo koncentrāciju ($p=0,099$). Tāpēc var apgalvot, ka veselīgiem cilvēkiem elpceļu epitēlija caurlaidība ir mazāka nekā HOPS un, iespējams, arī astmas slimniekiem. Smēķēšanas dēļ šī caurlaidība palielinās, bet daļa konstatētās caurlaidības palielināšanās, iespējams, ir uz mazāka nepieciešamā krēpu ierosināšanas laika rēķina (urīnviela mazāk atšķaidās) veselīgiem smēķētājiem ar lielu smēķēšanas stāžu.

Vairums autoru pieņem, ka pirms BAL vai krēpu ierosināšanas urīnvielas koncentrācija epitēliju klājošā šķidrums elpceļos ir vienāda vai tuva urīnvielas koncentrācijai asins plazmā [Effros, 1992;Nocker, 1999;Rennard, 1986;Schmekel, 1995]. Tomēr, kā mēs esam konstatējuši, visas regresijas līknes tuvu nulles minūšu ilgās ierosināšanas gadījumā sākas nevis no 100% urīnvielas relatīvās koncentrācijas, bet no 43,39 līdz 45,54% (sk. 25. att., līknes pie abscisas sākumpunkta, kā arī vienādojumu brīvie locekļi - b_0 koeficienti). Bez tam nevienam cilvēkam, arī ļoti maza ierosināšanas laika gadījumā, nenovēroja krēpu urīnvielas relatīvo koncentrāciju, kas būtu augstāka par 80% no koncentrācijas plazmā (sk. 25. att., punkti). Tas norāda, ka urīnvielas koncentrācija, lai arī kāda būtu bronhu epitēlija caurlaidība, nekad pilnībā nepagūst līdzsvaroties starp asins plazmu un krēpām. Iemesls varētu būt bronhociliārā pārnese un spontāno krēpu izdalīšanās, kas visu laiku aizvāc izveidojušās krēpas kopā ar tur esošo urīnvielu. Tomēr ir arī pretējs process - no alveolu un perifērisko elpceļu virsmas pastāvīgi iztvaiko ūdens, kas izdalās ar izelpas gaisu, un šim procesam ir tendence palielināt sāļu un, iespējams, arī urīnvielas koncentrāciju epitēliju klājošā šķidrums. Tomēr arī urīnviela izdalās ar izelpas gaisu aerosola veidā, kurš veidojas elpošanas procesā plaušās. Par to liecina arī urīnvielas noteikšana izelpas kondensātā [Gessner, 2001].

Ne veselīgiem cilvēkiem, ne bronhiālās astmas slimniekiem netika novērota krēpu supernatanta GPx aktivitātes ietekme uz urīnvielas relatīvo koncentrāciju krēpu supernatantā, turpretī HOPS slimniekiem urīnvielas relatīvā koncentrācija krēpu supernatantā vājas glutaciona preoksidāzes aktivitātes gadījumā bija būtiski lielāka nekā veselīgiem cilvēkiem un bronhiālās astmas slimniekiem. Savukārt pastiprinātas GPx aktivitātes gadījumā urīnvielas relatīvā koncentrācija ierosinātās krēpās HOPS

slimnieku grupā mazinājās eksponenciāli līdz veselo cilvēku un astmas slimnieku grupas līmenim. Šo efektu var skaidrot ar glutaciona redukcijas un oksidācijas sistēmas būtisko nozīmi elpceļu epitēlija primārajā aizsardzībā pret brīvajiem radikāļiem, kas savukārt nepietiekamas antioksidatīvās aizsardzības dēļ bojā elpceļu epitēliju un palielina tā caurlaidību [Lannan, 1994;Li, 1994;Bucala, 1996;Rahman, 1999;Rahman, 1999;Rusznak, 2000;Avisar, 2000;Comhair, 2001]. Kā iepriekš minējām, urīnvielas relatīvā koncentrācija raksturo elpceļu epitēlija caurlaidību, kas, iespējams, saistīta ar tā bojājumu pakāpi. Vājas GPx aktivitātes gadījumā HOPS slimniekiem ir nepietiekami aizsargāts elpceļu epitēlijs no brīvajiem radikāļiem, kas izraisījuši tā bojājumu. Savukārt pietiekami lielas GPx aktivitātes gadījumā šie bojājumi HOPS slimnieku grupā ir mazāki un neizraisa epitēlija caurlaidības pieaugumu. Veselo cilvēku grupā arī vājāka GPx vai arī citu antioksidantu aktivitāte ir pietiekama, lai nodrošinātu elpceļu epitēlija antioksidatīvo aizsardzību un novērstu tā bojājumus. Kā zināms, HOPS slimniekiem antioksidatīvajai sistēmai elpceļu epitēlijs jāaizsargā ne tikai no tabakas dūmos esošiem oksidantiem, bet arī no oksidantiem, ko izdala HOPS slimnieku elpceļos palielinātā skaitā esošie un aktivētie neitrofilie leukocīti un citas iekaisumšūnas. Savukārt astmas gadījumā, iespējams, sabiezētā elpceļu bazālā membrāna neatkarīgi no elpceļu epitēlija bojājuma pakāpes ierobežo urīnvielas difūziju caur elpceļu sienu un urīnvielas relatīvā koncentrācija nemainās.

Urīnvielas relatīvajai koncentrācijai ierosināto krēpu supernatantā tika novērota funkcionāla saistība arī ar GPx aktivitāti asins plazmā. Veselu cilvēku grupā, palielinoties plazmas GPx aktivitātei, novēroja būtisku urīnvielas relatīvās koncentrācijas mazināšanos ierosināto krēpu supernatantā. Turpretī HOPS slimnieku grupā, palielinoties plazmas GPx aktivitātei, būtiski palielinājās urīnvielas relatīvā koncentrācija krēpu supernatantā. Savukārt bronhiālās astmas slimnieku grupā plazmas GPx aktivitātes ietekmē netika novērotas nekādas ticamas pārmaiņas urīnvielas relatīvajā koncentrācijā krēpu supernatantā. Astmas gadījumā, līdzīgi kā minējām iepriekš, urīnvielas relatīvās koncentrācijas nemainīšanos, iespējams, var skaidrot ar sabiezēto bazālo membrānu, kas neatkarīgi no elpceļu epitēlija bojājumiem varbūt ir galvenais urīnvielas difūziju ierobežojošais faktors. Veseliem cilvēkiem urīnvielas relatīvās koncentrācijas mazināšanās, pieaugot plazmas GPx aktivitātei, iespējams, saistīta elpceļu epitēlija caurlaidības mazināšanos šo šūnu labākas antioksidatīvās aizsardzības dēļ. Turpretī HOPS slimnieku grupā novērotais urīnvielas relatīvās koncentrācijas krēpās pieaugums, pieaugot GPx aktivitātei plazmā, ir samērā neskaidrs. Varbūt tā ir organisma ģeneralizēta atbildreakcija uz paaugstinātu iekaisuma izraisītu oksidatīvo stresu plaušu audos. Nepietiekama antioksidatīvās aizsardzības sistēmas aktivitāte HOPS slimnieku elpceļos nespēj novērst iekaisuma pastiprināto oksidatīvo stresu, un organisms palielina ģeneralizētu antioksidatīvo aizsardzību. Jo lielāks antioksidatīvās aizsardzības deficīts plaušās, jo lielāka šā ģeneralizētā antioksidatīvā atbilde, kas tomēr ir nepietiekama, lai novērstu elpceļu epitēlija bojājumus un palielinātu urea caurlaidību elpceļos.

Apkopojot iepriekš minēto, var secināt, ka HOPS slimniekiem ir palielināta elpceļu epitēlija caurlaidība un, smēķēšanas dēļ pieaugot pakgadu skaitam, šī caurlaidība vēl vairāk palielinās, par ko liecina sākumā paaugstinātā urīnvielas relatīvā koncentrācija ierosinātās krēpās, kura, palielinoties izsmēķēto pakgadu skaitam, vēl vairāk pieaug. Ja ir vāja GPx aktivitātes ierosinātās krēpās, HOPS slimniekiem ir nepietiekami aizsargāts elpceļu epitēlijs no brīvajiem radikāļiem, kas, iespējams, izraisījis tā bojājumus, par ko liecina palielinātā urīnvielas relatīvā koncentrācija krēpās HOPS slimniekiem ar vāju krēpu GPx aktivitāti. Savukārt

pietiekami lielas krēpu GPx aktivitātes gadījumā šie bojājumi HOPS slimnieku grupā ir diezgan mazi un neizraisa epitēlija caurlaidības pieaugumu, uz ko norāda urīnvielas relatīvās koncentrācijas mazināšanās. Turpretī HOPS slimnieku grupā novērotais urīnvielas relatīvās koncentrācijas krēpās pieaugums, pieaugot GPx aktivitātei plazmā, ir organisma ģeneralizēta atbildreakcija uz paaugstinātu iekaisuma izraisītu oksidatīvo stresu plaušu audos, ko nespēj novērst lokālā antioksidatīvā aizsardzība. Bronhiālās astmas slimniekiem arī bronhu epitēlija caurlaidība, iespējams, ir palielināta, tomēr urīnvielas difūziju stipri ierobežo kāds cits faktors – iespējams, sabiezētā elpceļu bazālā membrāna, par ko bez urīnvielas relatīvās koncentrācijas mazināšanās, pieaugot krēpu ierosināšanas laikam, par spīti astmai raksturīgajam bronhu epitēlija bojājumam, liecina arī urīnvielas relatīvās koncentrācijas nemainīšanās, pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam, kā arī nemainīšanās atkarībā no GPx aktivitātes krēpās un asins plazmā. Veseliem cilvēkiem elpceļu epitēlija caurlaidība ir mazāka nekā HOPS un, iespējams, arī astmas slimniekiem. Smēķēšanas dēļ šī caurlaidība palielinās, bet daļa konstatētās caurlaidības palielināšanās, iespējams, ir uz mazāka nepieciešamā krēpu ierosināšanas laika rēķina (urīnviela mazāk atšķaidās) veseliem smēķētājiem ar lielu smēķēšanas stāžu. Pie kam, veselo cilvēku grupā nenovēroja krēpu supernatanta GPx aktivitātes ietekmi uz elpceļu urīnvielas caurlaidību, kas bija vājināta un liecina par pietiekami labu elpceļu antioksidatīvo aizsardzību. Veseliem cilvēkiem urīnvielas relatīvās koncentrācijas mazināšanās, pieaugot plazmas GPx aktivitātei, iespējams, saistīta ar asinsvadu endotēlija un elpceļu epitēlija caurlaidības mazināšanos šo šūnu labākas antioksidatīvās aizsardzības dēļ.

2.5. Alfa-1 antiproteāze

α_1 -antitripsīna koncentrācijas palielināšanos plazmā, pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam HOPS slimnieku un veselu cilvēku grupā, var skaidrot ar neitrofilo leukocītu skaita pieaugumu ierosinātās krēpās, pieaugot smēķēšanas stāžam šais grupās. Kā aprakstīts iepriekš (sk. 1.2. apakšnodaļu “Neitrofilie leukocīti” Diskusijas nodaļā), neitrofilo leukocītu skaits ierosinātās krēpās gan veselo cilvēku, gan HOPS slimnieku grupā pieauga vienādi ātri izsmēķēto pakgadu ietekmē, tomēr HOPS slimniekiem tas bija būtiski lielāks, jau maza smēķēšanas stāža gadījumā un palielināts saglabājās, arī pieaugot pakgadu skaitam. α_1 -antitripsīna koncentrācija, palielinoties neitrofilo leukocītu skaitam ierosinātās krēpās, visstraujāk pieauga tieši HOPS slimniekiem, lai gan tās palielināšanās tendenci novēroja arī veselo cilvēku grupā. Kā zināms, tieši neitrofilie leukocīti ir galvenais elastāzes avots elpceļos, kuras inaktivācijai nepieciešams α_1 -antitripsīns [Vignola, 1998; Stockley, 2000]. Bez tam neitrofilie leukocīti ir nozīmīgs oksidantu avots, kas var oksidatīvi degradēt un inaktivēt α_1 -antitripsīnu [Carp, 1982; Jackson, 1984; Maier, 1992]. Kā aprakstīts iepriekš (sk. 2.1. apakšnodaļu “Glutationa peroksidāze” Diskusijas nodaļā), GPx aktivitāte ticami mazinājās HOPS slimnieku krēpās pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam, bez tam arī kopējā antioksidatīvā aizsardzība HOPS slimniekiem bija vājināta, par ko liecina paaugstinātā substrāta oksidējamība HOPS slimnieku krēpās (sk. 2.3. apakšnodaļu “Substrāta oksidējamība” Diskusijas nodaļā). Tāpēc HOPS slimniekiem, pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam un palielinoties neitrofilajam iekaisumam, nepieciešama arvien lielāka α_1 -antitripsīna koncentrācija plaušās, lai aizsargātu plaušu audus no elastāzes izraisītas degradācijas. Pie tam jākompensē arī oksidantu izraisītā α_1 -antitripsīna degradācija. Tā kā α_1 -antitripsīns tiek sintezēts nevis plaušās, bet aknās [Vignola, 1998; Stockley, 2002], tad, palielinoties tā sintēzei, palielinās arī tā koncentrācija asinīs, ar kurām α_1 -antitripsīnu nogādā plaušās. Tāpēc,

kaut arī HOPS slimniekiem visstraujāk palielinās α_1 -antitripsīna koncentrācija asinīs, pieaugot neitrofilam iekaisumam plaušās, tomēr tā koncentrācija HOPS slimnieku plaušās ir nepietiekama, lai inaktivētu elastāzi [Vignola, 1998; Sanguinetti, 1992]. Par to liecina citu autoru novērotā palielinātā elastāzes aktivitāte plaušās [Vignola, 1998; Hill, 1999], kā arī HOPS slimniekiem novērotais plaušu elasticitātes zudums un FEV₁ kritums, ko izraisījusi plaušu elastīgā karkasa degradācija [Vignola, 1998; Stockley, 2000]. Piemēram, Viņola novērojis būtiski palielinātu elastāzes aktivitāti un koncentrāciju ierosinātās krēpās HOPS slimniekiem salīdzinājumā ar veseliem nesmeķētājiem un veseliem smēķētājiem, bet veseliem smēķētājiem lielāku nekā veseliem nesmeķētājiem [Vignola, 1998]. HOPS un astmas slimniekiem viņš novērojis ticamu korelāciju starp neitrofilo leukocītu skaitu ierosinātās krēpās, elastāzes aktivitāti un koncentrāciju ierosinātās krēpās [Vignola, 1998]. Arī α_1 -antitripsīna koncentrācija ierosinātās krēpās HOPS un bronhiālās astmas slimniekiem viņš novēroja augstāku nekā veseliem nesmeķētājiem un smēķētājiem [Vignola, 1998]. Kaut arī veselu cilvēku grupā konstatējām α_1 -antitripsīna koncentrācijas pieaugumu asinīs līdzīgu kā HOPS slimniekiem, pieaugot smēķēšanas stāžam, un neitrofilo leukocītu skaitam krēpās, kā arī pašu neitrofilo leukocītu skaits abām grupām līdzīgi pieauga smēķēšanas ietekmē, tomēr neitrofilo leukocītu skaits krēpās veselīm cilvēkiem līdzīgas smēķēšanas anamnēzes gadījumā bija zemāks kā HOPS slimniekiem un tiem bija labāka kopējā antioksidatīvā aizsardzība nekā HOPS slimniekiem. Tāpēc ar asinīm atnesot līdzīgu α_1 -antitripsīna daudzumu kā HOPS slimniekiem vienādas smēķēšanas anamnēzes gadījumā, tas tiek mazāk oksidatīvi inaktivēts, un nepieciešamība pēc tā veselu cilvēku plaušās ir mazāka. Līdz ar to α_1 -antitripsīna pienesums ar asinīm plaušās veseliem smēķētājiem ir pietiekams, lai novērstu pastiprinātu plaušu elastīgā karkasa degradāciju.

Astmas slimniekiem ar mazu neitrofilo leukocītu skaitu ierosinātās krēpās α_1 -antitripsīna koncentrācija bija augstāka nekā HOPS slimniekiem ar līdzīgu neitrofilo leukocītu skaitu, tomēr, pieaugot neitrofilo leukocītu skaitam, astmas slimniekiem šī α_1 -antitripsīna koncentrācija nemainījās atšķirībā no pārējām grupām. To var skaidrot ar mazāku oksidatīvo stresu nekā HOPS gadījumā un iespējami neefektīvāku kompensācijas mehānismu kā veseliem cilvēkiem. Astmas slimniekiem substrāta oksidējamība nebija tik liela kā HOPS slimniekiem un bija tikai nedaudz nebūtiski lielāka kā veseliem cilvēku, arī neitrofilo leukocītu skaits krēpās bija līdzīgs kā veselo cilvēku grupā un pieaugot smēķēšanas stāžam, astmas slimniekiem tas palielinājās līdzī kā veseliem cilvēkiem. Tāpēc iespējams, astmas gadījumā α_1 -antitripsīna deficīts elpceļos nav tik liels kā HOPS gadījumā, bet ilgstošas smagas astmas vai smēķēšanas gadījumā pieaugošais neitrofilais iekaisums [Jatakanon, 1999; Sampson, 2000] var izraisīt α_1 -antitripsīna deficītu plaušās, un arī astmas gadījumā attīstās elpceļu nereversīva obstrukcija. Par to netieši liecina citu autoru novērotā α_1 -antitripsīna koncentrācijas korelācija ar elastāzes koncentrāciju ierosinātās krēpās astmas slimniekiem [Vignola, 1998]. Pie kam astmas slimniekiem novērota ticama korelācija starp neitrofilo leukocītu skaitu un elastāzes koncentrāciju un aktivitāti ierosinātās krēpās [Vignola, 1998].

Tāpēc varm secināt, ka, palielinoties smēķēšanas stāžam vienādi pieaug α_1 -antitripsīna koncentrācija plazmā veseliem cilvēkiem un HOPS slimniekiem, kam cēlonis ir plaušu neitrofilā iekaisuma pastiprināšanās - rodas elastāzes aktivitātes pieaugums un oksidatīvais stress, kas pastiprina α_1 -antitripsīna degradāciju. Tomēr HOPS slimniekiem neitrofilo leukocītu skaits krēpās ir lielāks, tie ir aktivēti un antioksidatīvā aizsardzība vājāka nekā veseliem cilvēkiem un α_1 -antitripsīns

degradējas straujāk. Uz to norāda arī būtiski palielinātā α_1 -antitripsīna koncentrācija plazmā HOPS slimniekiem ar lielu neitrofilo leukocītu skaitu ierosinātās krēpās, kā arī mazāka α_1 -antitripsīna koncentrācijas palielināšanās veseliem cilvēkiem ar lielu neitrofilo leukocītu skaitu ierosinātās krēpās.

3. Krēpu ierosināšanas ātrums

Mēs krēpu produktivitātes atspoguļošanai krēpu ierosināšanas laikā ieviesām jaunu raksturlielumu - krēpu ierosināšanas ātrumu. Tas ir krēpu daudzums gramos, kuru vidēji iegūst 1 min krēpu ierosināšanas laikā. Tas tika darīts tāpēc, ka par produktivitātes raksturlielumu nevarēja izmantot krēpu masu, jo, lai iegūtu turpmākām analīzēm nepieciešamo krēpu daudzumu (aptuveni 5 ml) dažādiem pacientiem bija nepieciešams atšķirīgs krēpu ierosināšanas laiks. Arī krēpu ierosināšanas laiku nevarēja izmantot par krēpu produktivitātes raksturlielumu, jo krēpas tiek diskreti iegūtas vairāku atkrēpošanu procesā un trauciņā to daudzums sākumā tika vērtēts vizuāli - samērā neprecīzi. Tikai pēc krēpu ierosināšanas pārtraukšanas tās tika nosvērtas.

Mūsu pētījumā novēroto krēpu ierosināšanas ātruma palielināšanos, pieaugot mūžā izsmēķēto pakgadu skaitam, veselo cilvēku un astmas slimnieku grupām, kā arī neatkarīgi no izsmēķēto pakgadu skaita palielināto krēpu ierosināšanas ātrumu HOPS slimnieku grupai var skaidrot ar trim faktoriem, kam par iemeslu ir tabakas dūmu darbība un bronhu iekaisums. Pirmkārt, bronhu gļotu dziedzeru hiperplāzija un palielināta aktivitāte. Otrkārt, palielināts kausšūnu skaits un aktivitāte bronhu epitēlijā. Treškārt, bronhu epitēlija, bronhu asinsvadu endotēlija un alveolu palielināta caurlaidība. Bronhu dziedzeru hiperplāzija un gļotu hipersekrecija pārsvarā novērota HOPS slimniekiem, pie kam atšķirībā no veseliem smēķētājiem HOPS slimnieku bronhu gļotu dziedzeros konstatēta neitrofilo leukocītu infiltrācija, kas norāda uz neitrofilo iekaisumu šajos dziedzeros [Maestrelli, 2001]. Savukārt kausšūnu hiperplāzija novērota gan veseliem smēķētājiem, gan smēķējošiem HOPS slimniekiem [Ebert, 1975; Tos, 1983; Lumsden, 1984; Spurzem, 1991; Riise, 1992; Saetta, 2000; Rennard, 2002]. Tas liecina par cigarešu dūmu izraisītu procesu [Maestrelli, 2001]. Uz bronhu epitēlija, bronhu asinsvadu endotēlija un alveolu caurlaidības palielināšanos tabakas dūmu ietekmē norāda albumīna palielināta koncentrācija smēķētāju ierosinātās krēpās un BAL [Vignola, 1998; Morrison, 1999], kā arī mazinātais tehnēcija (^{99m}Tc -DTPA) pusizskalošanās periods smēķētājiem, kurš vēl vairāk mazinās tūlīt pēc smēķēšanas [Morrison, 1999]. Arī pētījumos *in vitro* novērota būtiska bronhu epitēlija kultūras caurlaidības palielināšanās pēc iedarbības ar tabakas dūmiem. Pie kam vislielākā caurlaidības palielināšanās novērota kultūrās, kas iegūtas no HOPS slimniekiem, vidēja - no veseliem nesmeķētājiem, bet vismazākā - no veseliem smēķētājiem [Rusznak, 2000]. Uz plazmas transudācijas palielināšanos, pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam, netieši norāda arī mūsu pētījumā novērotā urīnvielas relatīvās koncentrācijas ierosināšanās krēpās procentos no urīnvielas koncentrācijas plazmā palielināšanās, pieaugot izsmēķēto pakgadu skaitam veseliem cilvēkiem un HOPS slimniekiem. Kā novērots pētījumos *in vitro*, tabakas dūmi un to kondensāts izraisa II tipa alveolāro epitēlijšūnu bojājumus un caurlaidības palielināšanos, bet, pievienojot GSH, epitēlija caurlaidība mazinās [Lannan, 1994; Li, 1994]. Tas norāda uz tabakas dūmos esošo oksidantu iesaistīšanos šajā procesā un glutaciona redukcijas un oksidācijas sistēmas nozīmi alveolārā epitēlija aizsardzībā. Arī mūsu pētījumā novērota sākumā palielinātās GPx aktivitātes mazināšanās HOPS slimnieku ierosinātās krēpās, palielinoties izsmēķēto pakgadu skaitam, kas norāda uz oksidantu izraisītu iespējamu GPx inaktivāciju un nepietiekamu tās aktivitāti plaušu antioksidatīvās aizsardzības nodrošināšanā. Arī iekaisums bronhos, īpaši neitrofilais

HOPS gadījumā, var palielināt krēpu izdalīšanos. HOPS slimniekiem ar lielāku neitrofilo leukocītu relatīvo skaitu BAL šķidrums ir lielāka spontāno krēpu producēšana [Thompson, 1989]. Arī mūsu pētījumā nesmēķējošiem un mazsmēķējošiem HOPS slimniekiem ir būtiski palielināts krēpu ierosināšanas ātrums, kas saglabājas nemainīgs arī liela izsmēķēto pakģadu skaita gadījumā, kas skaidrojams ar neitrofilo leukocītu iekaisumu pašos bronhu gļotu dziedzeros [Maestrelli, 2001]. Neitrofilo leukocītu elastāze HOPS slimniekiem ir viens no faktoriem, kas palielina gļotu sekrēciju [Stockley, 2000]. Bez tam neitrofilo leukocītu elastāze var ksanfīndehidrolāzi (XD) pārvērst par ksanfīnoksidāzi (XO) [Phan, 1992], kuras sintezētie oksidanti var izraisīt lipīdu mediatoru izdalīšanos no granulocītiem [Lansing, 1991], kas savukārt palielina elpceļu asinsvadu caurlaidību un plazmas eksudāciju [Misawa, 1993].

Secinājumi

- 1. Smēķēšana pastiprina neitrofilo iekaisumu bronhos un veicina leukopoēzi kaulu smadzenēs smēķētājiem bez elpceļu obstrukcijas, bronhiālās astmas, bet īpaši HOPS slimniekiem. Neitrofilā iekaisuma intensitāte elpceļos ir tieši saistīta ar smēķēšanas stāžu.**
- 2. Smēķēšana izraisa eozinofilo iekaisumu bronhos smēķētājiem bez elpceļu obstrukcijas un HOPS slimniekiem.**
- 3. Nesmēķējošiem astmas slimniekiem jau sākotnēji vērojams eozinofils iekaisums bronhos. Smēķēšana astmas slimniekiem neizraisa turpmāku eozinofilā iekaisuma pastiprināšanos.**
- 4. Smēķēšanas ietekmē HOPS slimniekiem aktivējas glutaciona antioksidatīvā aizsargsistēma asins plazmā. Savukārt glutaciona sistēmas aktivitāte plaušās samazinās pieaugot smēķēšanas stāžam.**
- 5. Smēķēšana palielina bronhu un alveolārā epitēlija caurlaidību gan smēķētājiem bez elpceļu obstrukcijas, gan īpaši HOPS slimniekiem, kas var būt saistīts ar nomāktu GPx aktivitāti.**
- 6. Smēķēšana palielina gļotu izdalīšanos no elpceļiem gan smēķētājiem bez elpceļu obstrukcijas, gan bronhiālās astmas slimniekiem, bet astmas slimniekiem šī ietekme ir lielāka.**
- 7. HOPS slimniekiem gļotu producēšana ir pastiprināta neatkarīgi no smēķēšanas un nemainās smēķēšanas ietekmē.**
- 8. Katalāzes aktivitāte plaušās ir atkarīga no neitrofilo leukocītu iesaistīšanās HOPS slimniekiem, bet no eozinofilajiem leukocītiem - astmas slimniekiem.**

Publikāciju saraksts par darba tēmu

1. I. Taivans, J. Lejnieks, G. Strazda, **N. Jurka**. Endoscopic measurements of bronchial and pulmonary microcirculation with laser Doppler perfusion meter. In: First Mediterranean Congress on Interventional Diagnosis for Thorax Diseases. Monduzzi Editore, Bolonga, 1996, pp 665-668.
2. Taivans I, Lejnieks J, Strazda G, **Jurka N**, Kvernebo K. Approaches for measurement of bronchial and bronchopulmonary microcirculation with laser Doppler technique. *Technology and Health Care*. 1999, 12, s 1-10.
3. Taivans I, Strazda G, **Jurka N**, Lejnieks J. The effect of body position change on blood perfusion measured from small bronchus with laser Doppler in humans. XVI World Congress of Asthma. Monduzzi Editore, Argentina. 1999, p 211-216.
4. **Jurka N**, Taivans I, Kumerova A, Lece A, Šķesters A. Šūnu spektrs un antioksidatīvais statuss inducētajās krēpās smēķētājiem ar un bez tendences uz hronisku obstruktīvu plaušu slimību (HOPS). *LU zinātniskie raksti*, 631. Rīga:LU, 2001, 4(1): 40-54.
5. **Jurka N**, Taivans, I., Šķesteris, A., Bukovskis, M., Strazda, G. Šūnu spektrs, antioksidantu līmenis un oksidatīvais statuss inducētajās krēpās smēķējošiem un nesmēķējošiem bronhiālās astmas slimniekiem. *LU zinātniskie raksti*, 643 Rīga: LU, 2001, 4(2): 43-63.
6. Taivans, I., **Jurka N**, Strazda, G. and Bražinskis, G. A simple method of bronchoprovocation using a valved holding chamber. *Journal of Aerosol Medicine*. 2004, 17(3) 270-277.
7. Bukovskis, M., **Jurka N**, Šķesteris, A., Strazda, G., and Taivans, I. Induced sputum cell spectrum and antioxidative status in chronic obstructive pulmonary disease, smoking and non-smoking bronchial asthma patients. *Proceedings of the Latvian Academy of sciences. Section B*, 2004. Rīga: Vol.58 No 5/6 (634/635) pp.175-181.
8. Bukovskis, M., **Jurka N**, and Taivans, I. High – dose inhaled steroids may induce neutrophilic inflammation in airways of asthma patients. *Proceedings of the Latvian Academy of sciences. Section B*, 2004. Rīga: Vol.58 No 5/6 (634/635) pp.191-197.

Pateicība

Autors izsaka pateicību Dr. Ph., Dr. Med., profesoram Immanuelam Taivanam par kompetentu darba vadīšanu.

Pateicos kolēģiem Dr. Ph. Guntai Strazdai un Dr. Ph., Dr. Med. Mārim Bukovskim par ieguldīto darbu disertācijas tapšanā.

Paldies sadarbības partneriem Dr. Ph. Andrejam Šķesterim, Dr. Ph., Dr. Med. Ausmai Kumerovai un Dr. Ph., Dr. Med. Annai Lecei par sadarbību darbam nepieciešamo bioķīmisko analīžu veikšanā.

Tencinu Dr. Ph. Antru Jurku par palīdzību darba tapšanā, kā arī savus vecākus par sapratni un atbalstu.