

LATVIJAS UNIVERSITĀTES
RAKSTI

694. SĒJUMS

Medicīna

SCIENTIFIC PAPERS
UNIVERSITY OF LATVIA

VOLUME 694

Medicine

SCIENTIFIC PAPERS
UNIVERSITY OF LATVIA

VOLUME 694

Medicine

LATVIJAS UNIVERSITĀTE

LATVIJAS UNIVERSITĀTES
RAKSTI

694. SĒJUMS

Medicīna

LATVIJAS UNIVERSITĀTE

UDK 61(082)
Me 082

Atbildīgais redaktors **Māris Baltiņš**

Redakcijas kolēģija:

Māris Baltiņš, *Dr. habil. med.*, prof. (LU) (galvenais redaktors)

Pēteris Alberts, *PhD.*, prof. (Zviedrija)

Irje Kollans (Irjo Collan), *PhD.*, prof. (Turku universitāte, Somija)

Ilmārs Lazovskis, *Dr. habil. med.*, prof. (P. Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca)

Renāte Ligere, *Dr. habil. med.*, prof. (LU Eksperimentālās un klīniskās medicīnas institūts)

Māris Mihelsons, *Dr. habil. med.*, prof. (LU)

Nikolajs Sjakste, *Dr. habil. med.*, prof. (LU)

Aija Žileviča, *Dr. habil. med.*, prof. (LU)

Literārie redaktori **Ruta Puriņa** un **Imants Mežaraups**

Maketu un vāka dizainu veidojis **Arnis Čakstiņš**

Visi krājumā ievietotie raksti recenzēti.

Pārpublicēšanas gadījumā nepieciešama Latvijas Universitātes atļauja.

Citējot atsauce uz izdevumu obligāta.

ISSN 1407-2157
ISBN 9984-783-28-6

© Latvijas Universitāte, 2006

Saturs / Contents

<i>Oxidative Activity of Blood Serum in Patients with Reactive Arthritis</i> Asins seruma oksidatīvā aktivitāte pacientiem ar reaktīvo artrītu Daina Andersone, Ingrida Rumba, Uldis Vikmanis, Inita Bulina	7
Slāpekļa oksīda fizioloģiskā funkcija organismā Maija Dzintare, Dainuvīte Meirena, Nikolajs Sjakste	12
Medicīnas pakalpojumu cenu aprēķināšanas metode Arkādijs Gandzs, Anatolijs Bļugers	27
Prognostisko faktoru – steroīdo hormonu receptoru, HER-2, audzēja morfoloģiskās malignitātes pakāpes – biežums un korelācija pacientēm ar krūts vēzi Alinta Hegmane, Uldis Vikmanis, Māris Sperga	32
Malignā hipertermija – vai tā ir problēma arī Latvijā? <i>Is Malignant Hyperthermia a Problem in Latvia too?</i> Tālis Kauliņš, Arnolds Jezupovs, Aleksejs Miščuks	37
Ķermeņa saliecējmuskuļu un atliecējmuskuļu analīze basketbolistiem Gundega Knipše, Leonīds Čupriks	45
Perioperatīvā mirstība un komplikācijas pēc plaušu audzēju operācijām Uldis Kopeika, Immanuels Taivāns, Ainis Pirtnieks, Aija Lange, Genādijs Ambalovs, Jāzevs Baško	50
Melanokortīnu receptora 1. apakštipa ekspresijas regulācija makrofāgu šūnu līnijā RAW264.7 Līga Krīgere, Kristīne Saleniece, Līga Zvejniece, Edgars Liepiņš, Reinis Vilšķersts, Maija Dambrova, Ruta Muceniece	60
HHV-6 un HHV-7 asociācija ar Gijēna-Barē sindromu <i>Association of HHV-6 and HHV-7 with Guillain-Barre Syndrome</i> Zaiga Nora, Ilga Ķikule, Svetlana Čapenko, Ināra Logina, Modra Murovska	68
Tuvredzības izplatība – vide vai iedzimtība? <i>Myopia Explodes: Is it Acquired or Inherited?</i> Roberts Paeglis, Anda Balgalve, Nikolajs Sjakste	74
Pirmās nacionālās cukura diabēta skrīninga programmas <i>DIA-screen</i> rezultāti <i>Results of the First National Diabetes Screening Programme DIA-screen</i> Valdis Pīrāgs, Natālija Bricina, Vilnis Dzērve, Inese Eisaka	85
HHV-6 un parvovīrusa B19 infekciju sastopamība pacientiem ar juvenilo artrītu <i>Frequency of HHV-6 and Parvovirus B19 Infection among Children with Juvenile Arthritis</i> Ingrīda Rumba, Svetlana Kozireva, Karīna Ivanova, Arkādijs Gandzs, Ieva Saulīte, Olga Bracslavska	92
Aizkuņģa dziedzera cistisko veidojumu diagnostika, izmantojot endoskopiskās ultrasonogrāfijas aspirācijas punktāta analīzi Aiga Stāka, Aldis Puķītis, Juris Pokrotnieks	98

Bērnu alotransplantēto nieru punkcijas biopsiju patomorfoloģija <i>Pathomorphological Characteristic of the Pediatric Patients Renal Allograft Function Biopsy</i>	
Valērijs Šumakovs, Igors Iļjinskis, Valentīna Gordjušina, Aleksejs Valovs	102
Alotransplantētas sirds koronāro artēriju patoloģija <i>Pathology of Coronary Arteries of Allografted Heart</i>	
Valērijs Šumakovs, Mogeļi Hubutija, Igors Iļjinskis, Valentīna Gordjušina	112
<i>Inhibition of HMG-CoA Reductase Improves Cutaneous Vasomotor Responses in Type-2 Diabetes Patients with LDL-hypercholesterinemia</i>	
HMG-CoA reduktāzes inhibēšana uzlabo ādas vazomotoro regulāciju 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ar ZBL-hiperholesterinēmiju	
Pēteris Tretjakovs, Antra Jurka, Agnis Štīfts, Juris Aivars, Anda Jansone, Valdis Pīrāgs	119
Cilvēka parvovīrusa B19 saistība ar reimatoīdo artrītu <i>Human Parvovirus B19 Association with Rheumatoid Arthritis</i>	
Jekaterina Žestkova, Irēna Danilāne, Helēna Mikažāne, Aivars Lejnietis, Svetlana Kozireva, Modra Murovska	129
<i>Etiological Agents of Nosocomial Urinary Tract Infections</i>	
Nozokomiālo urīnceļu infekciju etioloģiskie aģenti	
Aija Žileviča, Ruta Pabērza	136
<i>Staphylococcal Infections in a Surgical Hospital</i>	
Stafilokoku infekcija ķirurģiskā slimnīcā	
Aija Žileviča, Tatjana Tračevska	145

Oxidative Activity of Blood Serum in Patients with Reactive Arthritis

Asins seruma oksidatīvā aktivitāte pacientiem ar reaktīvo artrītu

Daina Andersone

University of Latvia, Faculty of Medicine
Sarlotes Str. 1, Riga LV-1001, Latvia
E-mail: d.andersone@stradini.lv

Ingrīda Rumba

University of Latvia, Faculty of Medicine
Sarlotes Str. 1, Riga LV-1001, Latvia

Uldis Vikmanis

University of Latvia, Faculty of Medicine
Sarlotes Str. 1, Riga LV-1001, Latvia

Inīta Bulina

Paula Stradins Clinical University Hospital
Pilsonu Str. 13, Riga, LV-1002, Latvia

Reaktīvais artrīts (ReA) ir viena no biežāk sastopamajām locītavu slimībām pacientiem ar uroģenitālu *Chlamydia trachomatis* izraisītu infekciju. Uroģenitālie ReA 30% gadījumu izraisa darba nespēju, bet 26% – invaliditāti (1). Lai izzinātu ārpuslocītavu iekaisuma cēloņus, izmeklēti 100 ReA pacienti I, II un III aktivitātes pakāpē. Darba mērķis bija noskaidrot, kā izmainās asins seruma lipīdu peroksidācijas procesi (LPO) pie dažādas sistēmiskā iekaisuma aktivitātes ReA pacientiem. Šim nolūkam asins serumā noteikta lipīdu spēja peroksidēties un LPO ātrums, kā arī LPO primāro un sekundāro produktu veidošanās daudzums un to savstarpējās attiecības. Iegūtie rezultāti liecina, ka ReA pacientu asins serumā pastiprināti veidojas lipīdu peroksīdi un LPO intensifikācija sākas jau pie minimālas iekaisuma procesa aktivitātes.

Atslēgvārdi: reaktīvs artrīts, lipīdu peroksidācija, diēnketoni, diēnkonjugāti.

Introduction

Reactive arthritis (ReA) is a joint disease, caused by infection localised in extraarticular structures (urogenital tract, etc.). The most common causative agent of the infection is *chlamydia trachomatis*. In every other patient with mixed urogenital infection there can be found the above mentioned causative agent of the infection [2, 3]. In destruction of structures unknown to the body an important role is played

by phagocytosis, during which oxidative explosion takes place and free radicals are released in chain reactions, thus activating LPO in cellular lipoprotein membranes [4]. This process creates the necessary preconditions for initiation of inflammation process in extraarticular structures. In patients with ReA, not only pain and swollen joints are observed, but also pathology of the system of extraarticular connective tissue. Unfortunately, studies of its reasons still contain many uncertain issues. One of them is – what changes in LPO processes occur in ReA patients' blood serum depending on the degree of inflammation activity.

Objective

To ascertain character and intensity of LPO process in blood serum at different activity of inflammation in ReA.

Methods

The study involved 100 ReA patients, who underwent treatment at the hospital "Gailezers" and the Rheumatology Centre of P. Stradins CUH. ReA was diagnosed in accordance with the diagnostic criteria of the Rheumatology Association of France [5]. The degree of ReA systemic activity was determined by C – reactive protein (CRP) level in blood serum and erythrocyte sedimentation rate (ESR) [6]. In ReA I these indices were at the norm, but differences between ReA II and ReA III was credible (allowable) ($p < 0.05$). The level of dienoconjugates and dienoketones in blood serum (nm/mg lipids) was determined by spectrophotometry at wave length 233 nm and 270 nm accordingly. Blood serum hemiluminiscence (HL) was determined by the indicator working in photon counting regimen, finding the height of HL slow curve (HL units) and the angle $\text{tg } \alpha$ of the slow curve, which correspondingly reveals the ability of lipids to peroxidise and the rate of lipid peroxidation [7,8]. The amount of lipids in blood serum corresponded to their physiological borders. Biochemical analyses were performed in the Laboratory of Molecular Biology of the Infectology Centre of Latvia.

The acquired results were processed with the method of descriptive statistics. The credibility of differences in the results was assessed by Student's test if the distribution corresponded to the standard, and by Wilcoxon-Mann-Witni test when two groups did not correspond to the standard. Two-sided p -values $< 0,05$ were considered significant.

The height of HL slow curve and bending angle $\text{tg } \alpha$ of this curve were significantly increased already in ReA I activity degree and went up even more in the II and III activity degrees.

It suggests the growing ability of lipids to peroxidase under influence of free radicals with the following increase in amount of LPO products in blood. LPO intensification in ReA II and ReA III activity degrees occurred unevenly, mainly due to secondary LPO products, which manifested in the reduction of dienoconjugate and dienoketone coefficient.

Results

Table 1

Indices of lipid peroxidation in blood serum in patients with reactive arthritis

Index	Control group	ReA I n= 36	p ¹	ReA II n=30	p ²	ReA III n= 34
Dienoconjugates	20,1 ± 0,7	26,0 ±0,80*	<0,05	34,0 ± 1,6 *	<0,05	41,2±1,5 *
Dienoketones	5,06 ± 0,22	5,63 ± 0,30	<0,05	9,31 ±0,50*	<0,05	11,6 ±0,6 *
Dienoconjugates/ Dienoketones	4,65 ± 0,19	4,63 ± 0,20	<0,05	3,48±0,20 *	> 0,05	3,45 ±0,51 *
Ability of lipids to peroxidise	3,14 ± 0,09	4,69 ±0,13*	<0,05	5,86± 0,02*	<0,05	7,00 ±0,29*
Rate of lipid peroxidation	2,25± 0,18	5,06 ±0,28*	<0,05	7,45 ± 0,22*	<0,05	12,20 ±0,41*
ESR (mm/h)	9± 3	10± 1	< 0,05	25 ± 2*	< 0,05	36 ± 3*
CRP(mg/dl)	5 ±1	4±2	< 0,05	30 ± 4 *	< 0,05	45 ± 3*

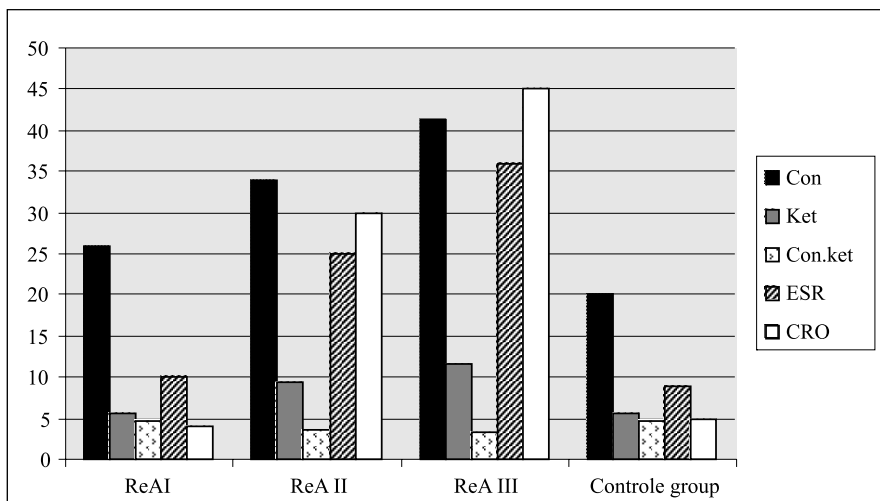
Mark:

* p < 0.05 in comparison to the control group

p¹ < 0.05 = ReA I in comparison to ReA IIp² < 0.05 = ReA II in comparison to ReA III

Diagram 1

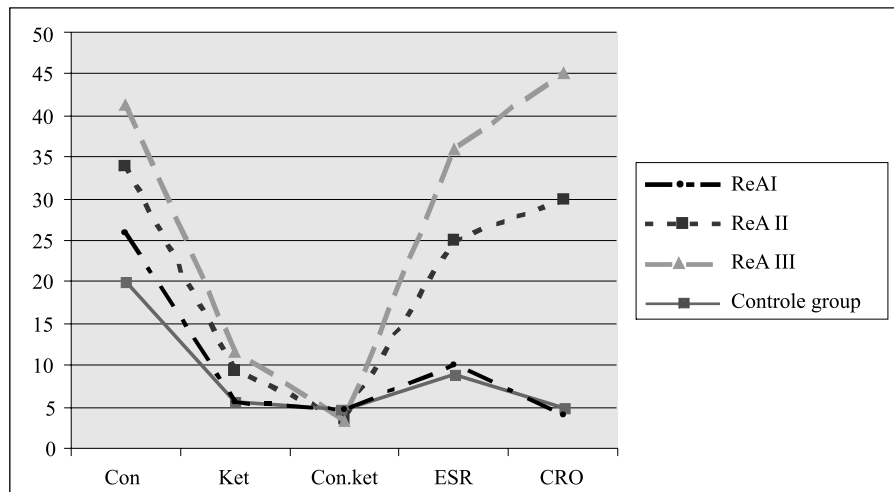
Lipid peroxidation and systemic inflammation parameters in patients with reactive arthritis



* Con- dienoconjugates; Ket – dienketones

Diagram 2

Primary and secondary LPO products in blood in patients with reactive arthritis



* Con- dienokonguātes; Ket – dienoketones

Discussion

Activated oxygen species from triggered phagocytes appear to exacerbate and perpetuate the inflammation condition. An increase in the amount of LPO primary products in blood serum at ReA II and ReA III occurred adequately (correspondingly) to activity of the inflammation process. LPO activation already at ReA I, when protein of the acute stage was still at the norm, suggests that changes of primary and secondary LPO products in blood serum reveal early inflammation process.

Free radical production at inflammation sites contributes to tissue damage and could also play a significant role in the pathogenesis of ReA [9, 10].

With growing activity of the inflammation process, evidently, free radicals of oxygen and peroxides and LPO products in blood serum go up, and affecting metabolism of different cells and membranes change their biochemical qualities, causing serious lesions in structures of connective tissue, which is characteristic of the ReA III activity degree [11].

LITERATŪRA

1. Kvien, T. K., Glennās, A., Melby, K., Granfors, K., Andrup, O., Karstensen et al. Reactive Arthritis: Incidence, Triggering Agents and Clinical Presentation. *J. Rheumatol.* 1994, 21:115–122.
2. Sieper, J. Braun, J. Diagnostik und antibiotische Therapie bei reaktiver Arthritis. *Deutsche Medizinische Wochenschrift.* 2002, 37: 1893–1896.
3. Domeika, M., Miltins, A., Mordh, P. A. *Hlamīdijas un to izraisītās cilvēku un dzīvnieku slimības.* Rīga: Zinātne, 1994, 103. lpp.

4. Winyard, P. G., Blake, D. R., Evans, C. H. *Free Radical and Inflammation*. Basle: Birkhauser, 2000. 272 p.
5. Priem, S., Franz, J., Krause, A. Aetiologie und Pathogenese bakteriell bedingter Arthritiden. *Internist*. 1999, 40: 936–944.
6. Лопухин, Ю. М., Владимиров, Ю. А., Молоденков, М. Н. Регистрация хемилюминесценции составных частей сыворотки крови в присутствии двухвалентного железа. *Бюлл. Экспер. Биол. и мед.* 1983, 97 (2): 61–64.
7. Владимиров, Ю. А. Арчакова, А. И. *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах*. Москва: Медицина, 1972. 252 с.
8. Banerjee, A. *Medical Statistics Made Clear: an Introduction to Basic Concepts*. Glasgow: Royal Society of Medicine Press Ltd, 2003. 137 p.
9. Araujo, V., Arnal, C., Boronat, M., Ruiz, E., Dominguez, C. Oxidant-antioxidant Imbalance. In: *Blood of Children with Juvenile Rheumatoid Arthritis*. 1998, 8 (1–2): 155–159.
10. Aaseth, J., Haugen, M., Forre, O. Rheumatoid Arthritis And Metal-Compounds-perspective on the Role of Oxygen Radical Detoxification. *Analyst*. 1998, 123(1): 3–6.
11. Knight, J. A. Free Radicals, Antioxidants, and the Immune System. *Ann.Clin.Lab. Sci.* 2000, 30: 145–158.

Summary

1. In ReA patients intensification of LPO processes in blood serum starts already at minimal activity of the systemic inflammation process.

2. In ReA I activity degree intensification of LPO processes occurs when the amount of primary LPO products (dienoconjugates) is increasing, but in activity degrees II and III – when the amount of secondary products (dienoketones) is increasing.

3. In ReA patients' blood serum the formation of lipid peroxides is intensified.

Slāpekļa oksīda fizioloģiskā funkcija organismā

Maija Dzintare¹, Dainuvīte Meirena¹, Nikolajs Sjakste²

¹Latvijas Organiskās sintēzes institūts
Aizkraukles iela 21, Rīga, LV-1006
E-pasts: maija.dzintare@gmail.com

²Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: Nikolajs.Sjakste@lu.lv

Slāpekļa oksīds (NO) ir gāzveida viela, brīvais radikālis, kam organismā ir ļoti daudzveidīgas funkcijas. NO organismā rodas, oksidējoties L-arginīnam. Reakciju katalizē enzīmi – NO sintāzes (endoteliālā NOS, neironālā NOS un inducējamā NOS). NO raksturīgās reakcijas (ar proteīnu hēma un ārpushēma Fe atomiem, brīvo radikāļu reakcijas, proteīnu –SH grupu nitrozilēšana u. c.) nodrošina NO bioloģisko funkciju veikšanu un arī tā toksiskos efektus. Zemās koncentrācijās NO regulē asinsvadu tonusu, piedalās nervu impulsu pārnēsē, leikocītu adhēzijas, trombocītu aktivitātes regulēšanā u. c. Augstās koncentrācijās NO raksturīgi citostatiski/citotoksiski efekti, tas piedalās šūnu imunitātes reakcijās.

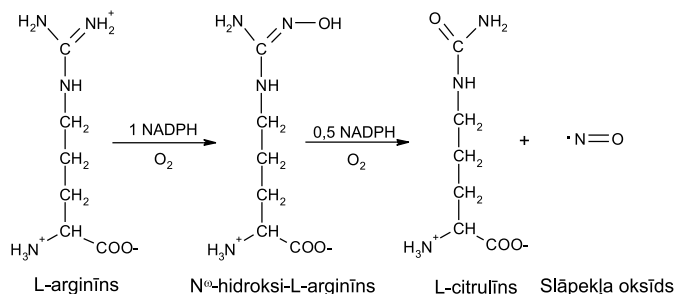
Atslēgvārdi: slāpekļa oksīds, eNOS, iNOS, nNOS, vazodilatācija, neurotransmisija, imunitāte.

Ievads

Slāpekļa oksīds ir viens no vienkāršākajiem ķīmiskajiem savienojumiem, tas ir gāzveida viela, brīvais radikālis. NO piedalās atmosfēras fotoķīmiskajos procesos, kas rada smogu. NO veidojas arī, degot akmeņoglēm, gruzdot tabakai [1]. 1916. gadā konstatēja, ka šo neorganisko vielu spēj sintezēt arī dzīvnieku organismi. Līdz 1981. gadam NO biosintēze bija pētīta tikai mikroorganismos – baktēriju nitrifikācijas un denitrifikācijas reakcijās. Sākot ar 1981. gadu, parādījās pirmās ziņas par slāpekļa oksīda esamību zīdītāju organismā. 1986. gadā to identificēja kā endoteliālo relaksācijas faktoru (EDRF) [2]. Drīz atklāja, ka slāpekļa oksīds piedalās ne tikai asinsvadu tonusa regulācijā, bet arī daudzos citos fizioloģiskos procesos organismā, piemēram, tas pārnes nervu impulsus, bet lielās koncentrācijās NO iedarbojas citostatiski un (vai) citotoksiski, nodrošinot šūnu imunitātes reakcijas. 1992. gadā slāpekļa oksīdu pasludināja par Gada molekulu. 1998. gadā par ieguldījumu NO izpētē piešķīra Nobela prēmiju medicīnā un fizioloģijā trim zinātniekiem: Robertam Fērčgotam (*Robert F. Furchgott*), Feridam Mirā (*Ferid Murad*) un Lūisam Ignaro (*Louis J. Ignarro*).

NO biosintēze

Organismā NO veido fermentu saime – NO sintāzes (NOS) (EC 1.14.23.) no aminoskābes L-arginīna, oksidējot vienu no terminālajiem N atomiem tās guanīdīna grupā [3] (sk. 1. att.).



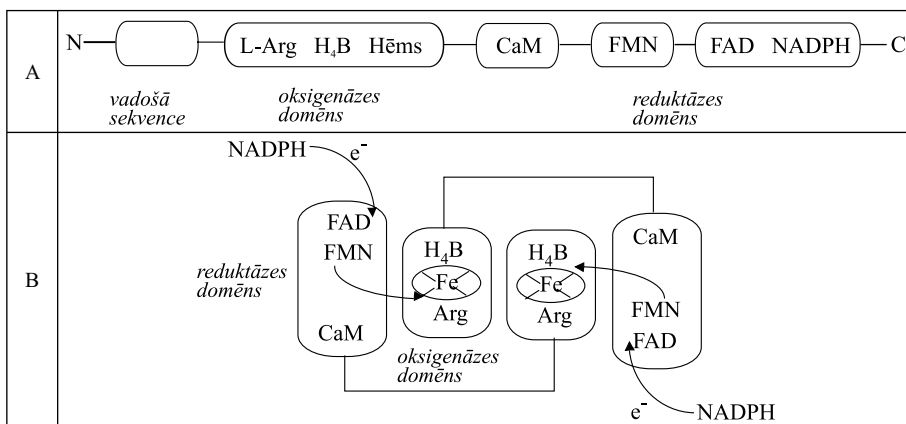
1. att. Slāpekļa oksīda biosintēze no L-arginīna

Ja šūnās trūkst L-arginīna, NOS var veidot superoksīda radikāļus (O_2^-) un ūdeņraža peroksīdu (H_2O_2) [4].

No audiem ir izdalītas trīs NOS izoformas: neuronālā (nNOS vai NOS I), inducējamā (iNOS vai NOS II) un endoteliālā (eNOS vai NOS III) izoforma. Ir identificēti trīs gēni, kas tās kodē attiecīgi 12., 17. un 7. hromosomā [5].

NOS struktūra

NO sintāzes ir homodimēri [6] (sk. 2. att.). Katrs NOS polipeptīds sastāv no oksigenāzes domēna N-galā un reduktāzes domēna C-galā. Oksigenāzes domēns veido fermenta aktīvo centru, kur noris NO sintēze. Šo domēnu vidū atrodas Ca^{2+} un sekvenca, kas saista kalmodulīnu (CaM) [7].



2. att. A – NOS polipeptīda struktūra, B – iNOS homodimēra struktūra;

NADPH – reducētais nikotīnamīdīdinukleotīdfosfāts, FAD – flavīnadenīndīnukleotīds, FMN – flavīnmononukleotīds, CaM – kalmodulīns, H₄B – tetrahidrobiopterīns

NOS polipeptīda N-galā piesaistās proteīni, kas regulē tās aktivitāti un nosaka fermenta lokalizāciju šūnā – tā spēju piesaistīties pie noteikta plazmas membrānas domēna vai metaboliska kompleksa. Piemēram, sintrofīna muskuļšūnās, postsinaptiskajiem proteīniem (PSD 95 vai PSD 93) nervu šūnās u. c. eNOS, nNOS un iNOS oksigenāzes domēnā ir sekvenca, kur piesaistīties kaveolīnam (angl. *caveolin*) – šūnas membrānas strukturālam proteīnam. Tas atrodas kaveolās (angl. *cave* – ala) – vietās, kur atrodas receptori, G proteīns un proteīnkināzes [8].

NOS aktivitātes regulācija

Neironālā un endoteliālā NOS ir konstitutīvi fermenti, kas šūnās ir ekspresēti pastāvīgi. Tos aktivē paaugstināta Ca^{2+} jonu koncentrācija šūnā, tie ir Ca^{2+} un kalmodulīna (CaM) atkarīgi fermenti. To veidotais NO daudzums ir salīdzinoši neliels (atsevišķi maksimumi, kā atbilde dažādiem fizioloģiskiem faktoriem, kas palielina Ca^{2+} koncentrāciju šūnā), tādējādi tie ir signālpārnesēji [9].

1. **Neironālā NO sintāze (nNOS)** neaktīvā stāvoklī ir saistīta neirona membrānā pie neirālā postsinaptiskā proteīna (PSD-95) un ir fosforilēta Ser un Tre atlikumos. Pēc N-metil-D-aspartāta (NMDA) receptora aktivēšanas šūnā palielinās Ca^{2+} jonu koncentrācija un CaM pievienojas nNOS. Ca^{2+} -CaM komplekss kopā ar tetrahydrobiopterīnu (H_4B) izraisa nNOS pārvietošanos no plazmas membrānas uz citoplazmu, kur pēc defosforilēšanas tā aktivējas, un sākas NO biosintēze. nNOS inaktivējas, tai fosforilējoties ar Ca^{2+} /kalmodulīna atkarīgās proteīnkināzes II vai proteīnkināžu A vai C palīdzību [10].
2. **Endoteliālā NO sintāze (eNOS)** neaktīvā formā ir miristilēta vai palmitilēta un atrodas šūnas membrānā saistītā veidā pie transmembrānas proteīna kaveolīna. Piesaistoties ligandam pie asinsvadu endotēlija acetilholīna receptora, aktivējas fosfolipāze C (PLC), kas katalizē fosfatidilinozitol-4,5-difosfāta (PIP_2) šķelšanos par inozitol-1,4,5-trifosfātu (IP_3) un diacilglicerolu (DAG). IP_3 izraisa intracelulārās Ca^{2+} koncentrācijas palielināšanos, aktivē CaM, kas piesaistās pie eNOS. eNOS disociē no kaveolīna, tiek defosforilēta un pārvietojas uz citoplazmu, kur notiek NO biosintēze. eNOS inaktivējas, proteīnkināzei A to fosforilējot, eNOS piesaistās atkal pie membrānas [8].
3. **Inducējamās NO sintāzes (iNOS)** aktivitāti regulē tās gēna ekspresija. Normālos apstākļos iNOS šūnā nav atrodama. iNOS ekspresiju stimulē vairāki faktori – citokīni, kā interleikīns-1 (IL-1); interferons- γ (IF- γ) vai audzēju nekrozes faktors- α (ANF- α), skābekļa un slāpekļa aktivās formas, lipopolisaharīdu dabas endotoksīni. iNOS transkripcijas aktivācijā piedalās tirozīnkināzes un kodola faktors- κB (NF- κB) [11]. Atšķirībā no eNOS un nNOS šī izofermenta aktivēšanai nav nepieciešams paaugstināts Ca^{2+} līmenis šūnā un CaM saistīšanās pie fermenta ir neatgriezeniska [12]. Tas ļauj veidot lielākus NO daudzumus, kas mērāmi mikromolos, salīdzinot ar konstitutīvo formu, kura veido NO kvantumus, kas mērāmi nmolos [13]. Turklāt iNOS inducēšana prasa zināmu laiku – 3 līdz 4 stundas, taču, reiz inducēta, tā darbojas ilgstoši, līdz tiek noārdīta proteosomās [14].

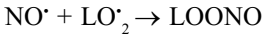
Reakcijas, kurās iesaistās NO

Savu lipofilo īpašību dēļ NO viegli difundē no šūnas uz šūnu cauri šūnu membrānu lipīdu slāniem. NO, būdams radikālis, ir ķīmiski ļoti aktīvs un strauji iesaistās reakcijās – tā pussabrukšanas laiks ($T_{1/2}$) ir ļoti īss: no 5 s aerētos ūdens šķīdumos līdz 120 ms *in vivo*. NO koncentrāciju audos un ķermeņa šķīdumos bieži raksturo ar tā oksidācijas galaproduktu – nitrītu NO_2^- un nitrātu NO_3^- (NO_x) – koncentrāciju, jo NO ļoti strauji oksidējas (NO saturs venozās asinīs ir 0,02 μM , bet NO_2^- – 30 μM) [15].

NO iesaistās pievienošanas, aizvietošanas un oksidēšanās–reducēšanās reakcijās ar olbaltumvielām, kas satur hēma un nehēma dzelzi. NO viegli saistās pie dzelzs atoma hemoglobīna hēmā. Pēc šāda mehānisma notiek arī guanilātciklāzes aktivācija,

kas nodrošina tādas būtiskas NO fizioloģiskās funkcijas kā gludās muskulatūras relaksācija, neurotransmisija, trombocītu agregācija [16].

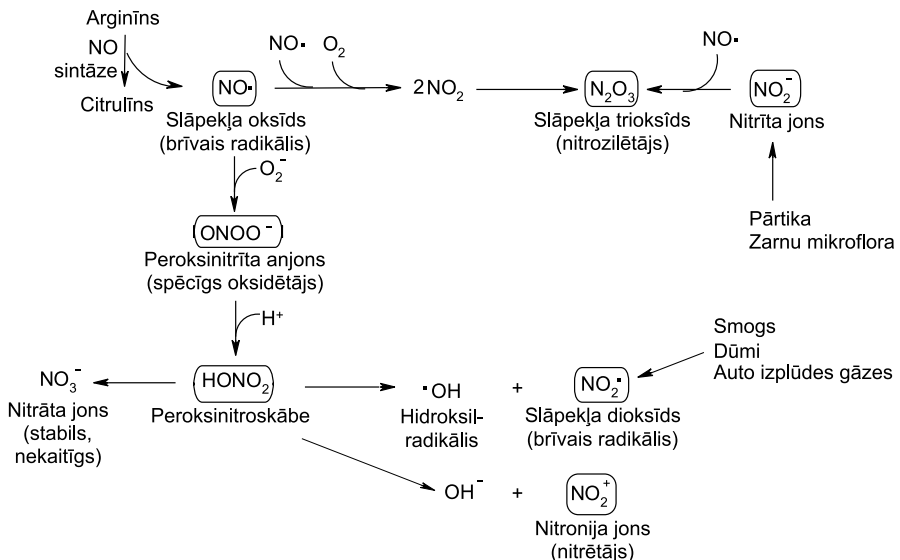
NO piedalās brīvo radikāļu reakcijās (sk. 3. att). Bieži tās ir saistītas ar NO veidošanos lielās koncentrācijās iekaisuma procesu vai dažādu slimību neurodeģeneratīvu (Parkinsona slimība) vai hronisku iekaisumu (reimatoīdais artrīts) gadījumos. Piemēram, reakcijā ar superoksīda radikāli (O_2^-) NO veido ļoti toksisku peroksinitrāta anjonu ($ONOO^-$), kas olbaltumvielās nitrozilē tirozīna atlikumus [17].



Bet NO reakcijai ar lipīdu peroksīdiem ($LO_2 \cdot$) ir pozitīva nozīme, tā aizsargā audus, pārtraucot lipīdu peroksidāciju [18, 19].

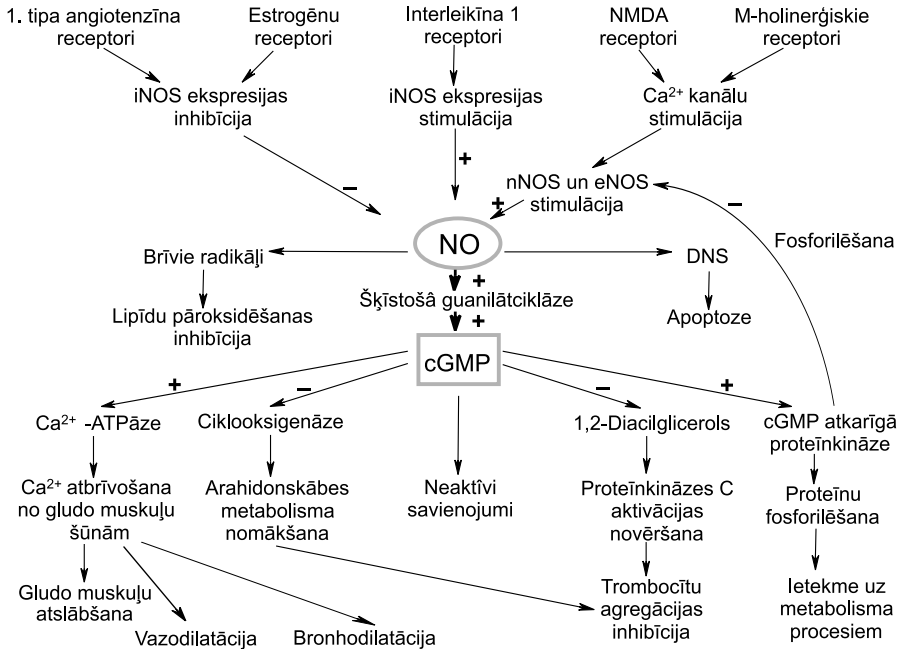
Ļoti viegli NO saistās ar tioliem (R-SH) un otrējiem amīniem ($R-H_2N$), veidojot atbilstošus nitrozosavienojumus ($RS-NO$; R_2N-NO).

NO ietekmē gēnu ekspresiju kā prokariotu, tā arī eikariotu šūnās. NO un tā atvasinājumi, kas rodas, NO reaģējot ar O_2 un aktīviem O_2 radikāļiem, izmaina oksidēšanās–reducēšanās statusu šūnās. Mainoties oksidēšanās–reducēšanās statusam, notiek transkripcijas faktoru modifikācija posttranslācijas līmenī. Transkripcijas faktori ir proteīni ar DNS saistošiem domēniem, kas ļauj transkripcijas procesa iniciācijas fāzē atpazīt noteiktu DNS reģionu, saistīties ar to un kontrolēt noteiktu gēnu ekspresiju. Šie proteīni satur strukturāli nomaskētas SH- grupas, jo to sastāvā ietilpst aminoskābe cisteīns. Ja cisteīna SH- grupas NO izraisītās oksidēšanās–reducēšanās ķēdes reakcijas rezultātā tiek oksidētas (izveidojas disulfīda [S – S] grupas, “tiltiņi”) vai nitrozilētas, tieši pašam NO radikālim reaģējot ar SH- grupām (izveidojas nitrozotioīli), tad mainās transkripcijas faktoru – proteīnu – konformācija. Rezultātā transkripcijas faktori nespēj saistīties ar DNS un veikt savas funkcijas. Tas pierādīts, pētot NO ietekmi uz eikariotu transkripcijas faktoriem: NF- κ B, AP-1 un p53 [20].



3. att. NO daļība brīvo radikāļu reakcijās (apvilkti ir aktīvie slāpekļa oksīda radikāļi)

Slāpekļa oksīda fizioloģiskā funkcija



4. att. NO sintēzes receptoratkarīgā regulācija un galvenie NO darbības mehānismi

(+) – aktivējoša ietekme, (-) – inhibējoša ietekme).

1. tabula

NO fizioloģiskā funkcija organismā

Organisma funkcionālās sistēmas	Fizioloģiskās reakcijas
Sirds asinsvadu sistēma	Asinsvadu relaksācija: smadzenēs, acs tīklenē, sirdī, plaušās, nierēs, zarnās, kavernozaļajos audos.
Elpošanas, gremošanas un uroģenitālā sistēma	Gludās muskulatūras atslābināšana: trahejā, kuņģī, zarnās, urīnpūslī, dzemdē.
Centrālā un perifērā nervu sistēma	Neimodulējoša aktivitāte, kas nosaka ilgstošu potenciālu un depresiju, atmiņas formēšanu, sāpju uztveri, redzes impulsu analīzi. Neurotransmisija nitrēģiskajos nervos, kas inervē asinsvadus, traheju, zarnas, kuņģi, kavernozaļos audos.
Endokrīnā sistēma	Hormonu: prolaktīna, tiroīd hormona, paratormona, virsnieru hormonu, reproduktīvā cikla hormonu sintēzes un sekrēcijas regulācija.
Hemostāzes sistēma	Leikocītu un asinsvadu sienas mijiedarbības regulācija, trombocītu aktivitātes regulācija.
Imūnsistēma	Antipatogēna reakcija, nespecifiskā citotoksitāte, antikancerogēna darbība, toksēmijas patoģenēze, transplantanta atgrūšana.

NO izraisītās bioloģiskās atbildes organismā ir ļoti daudzveidīgas un atkarīgas no tā veidošanās apstākļiem – kur, kad un cik lielā daudzumā NO veidojas un metabolizējas (sk. 4. att.) [21]. NO organismā var būt regulējoša funkcija, tam var būt arī aizsargājoša vai tieši pretēji – toksiska ietekme [22]:

- **NO piedalās** asinsvadu tonusa, asinsvadu caurlaidības, bronhu tonusa, trombocītu adhēzijas, nieru funkciju **regulēšanā**;
- **NO aizsargājošā ietekme** izpaužas tā antioksidanta aktivitātē, leikocītu adhēzijas inhibēšanā un aizsardzībā pret ANF- α toksisko darbību;
- **NO kļūst toksisks** lielās koncentrācijās. Tas izpaužas kā vairāku fermentu inhibēšana, DNS struktūras bojāšana, lipīdu peroksidācijas izraisīšana, antioksidantu koncentrācijas pazemināšana, šūnas jutības paaugstināšana pret radiāciju, alkilējošiem aģentiem un smago metālu joniem.

1. tabulā [20] ir apkopota NO kā regulējošas molekulas izraisītās fizioloģiskās reakcijas dažādās organisma sistēmās.

Asinsvadi

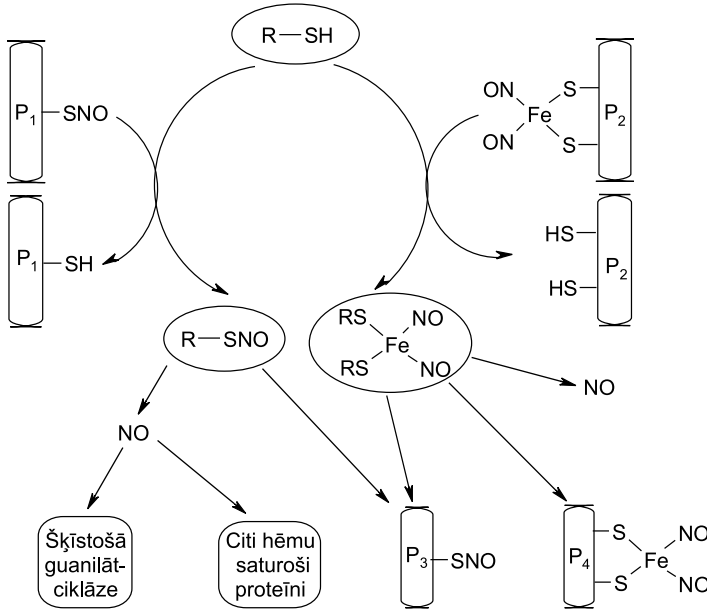
Pirmie pētījumi par NO ir saistīti ar tā funkciju asinsvadu tonusa regulācijā. Pagājušā gadsimta astoņdesmitajos gados EDRF identificēja kā NO. Visi asinsvadi – artērijas, vēnas un kapilāri – atrodas pastāvīgā aktīvā pamatstāvoklī – relaksācijā, jo endotēlijs nepārtraukti izdala NO, atbildot uz asins formelementu radīto berzes stresu. NOS inhibitori, savukārt, izraisa vazokonstrikciju un arteriālā spiediena paaugstināšanos [23].

Asinsvadu sienīņu gludās muskulatūras tonusa samazināšanās notiek pēc šāda mehānisma: NO, kas veidojas asinsvadu endotēlijšūnās, difundē blakus esošajās gludās muskulatūras šūnās un tur aktivē šķīstošo guanilātciklāzi, līdz ar to miocītā pieaug cGMP koncentrācija un no šūnas tiek izvadīti Ca^{2+} joni – muskuļšūna atslābst [24].

NO var darboties ne tikai autokrīni, bet arī parakrīni. Kā šī ķīmiski ļoti aktīvā viela tiek transportēta attālumā, kas pārsniedz vienas šūnas izmērus? Izrādās, ka NO transportforma ir slāpekļa oksīda komplekss ar cisteīnu (S-nitrozocisteīns), kas aizsargā tajā ietilpstošo NO no oksidācijas un atbrīvo to tikai tiešā kontaktā ar gludās muskulatūras šūnām. Tādējādi NO organismā var stabilizēties, saistoties pie proteīnu sastāvā esošām –SH grupām S-nitrozotolu veidā vai veidojot ar tām dzelzi saturošus dinitrozilkompleksus. Šie savienojumi organismā var noderēt ne tikai NO transportam asinīs, bet arī tā deponēšanai audos (sk. 5. att.) [25].

Ar asinīm slāpekļa oksīds tiek transportēts un saistīts pie hemoglobīna hēma grupas Fe^{2+} atoma. Šī saistīšanās notiek ļoti strauji, un *in vitro* apstākļos praktiski viss NO tiek piesaistīts $\text{Hb}(\text{Fe}^{2+})\text{NO}$ veidā. *In vivo* šo reakciju ierobežo un regulē izmaiņas eritrocītu membrānās [26], lai asinīs daļa NO būtu brīvā veidā un varētu īstenot savu fizioloģisko funkciju – asinsvadu tonusa regulāciju, t. i., lai tiktu aizsargāta tā bioloģiskā pieejamība. To skaidro NO bioaktivitātes eksporta teorija [27]: Hb pārmaiņus gan piesaista, gan atbrīvo NO atkarībā no asiņu piesātinājuma ar skābekli. Artērijās, kur O_2 parciālais spiediens asinīs ir augsts, NO ļoti viegli difundē cauri eritrocītu membrānai un piesaistās pie Hb hēma Fe^{2+} atoma. Daļa no šādi piesaistītā NO pārvietojas no hēma uz globīnu, kur nitrozilē tiola (SH-) grupas cisteīna atlikumos, veidojot S-NO-Hb. Kapilāros, kur asiņu piesātinājums ar skābekli ir zems, S-NO-Hb atbrīvo piesaistīto O_2 . Tas veicina S-NO-Hb saistīšanos ar proteīnu AE1, kas atrodas eritrocīta membrānas iekšpusē un kam piemīt anjonu apmaiņas funkcija. Izveidojas S-NO-AE1, kas izvada NO no eritrocītiem. NO atbrīvošanas mehānisms un X-NO ķīmiskā uzbūve vēl jāpēta. Tādējādi tiek nodrošināta selektīva NO piegāde ar skābekli

nabadzīgiem audiem, paplašinās asinsvadi un palielinās asinsplūsma tur, kur tas ir visvairāk nepieciešams [28, 26].



5. att. NO transports asinīs, saistoties ar zemas molekulas tioliem (R-SH): NO saistīšanās pie proteīnu hēma grupām vai pie pašiem proteīniem (P_x) nitroziltiolu vai tiolu-Fe-dinitrozilkompleksu veidā

Sirds

Sirds audos identificētas četras NOS izoformas – nNOS, iNOS, eNOS un nNOS μ . Pēdējā izoforma – nNOS μ – ir analogiska šķērsvītrotu muskuļaudu nNOS [29].

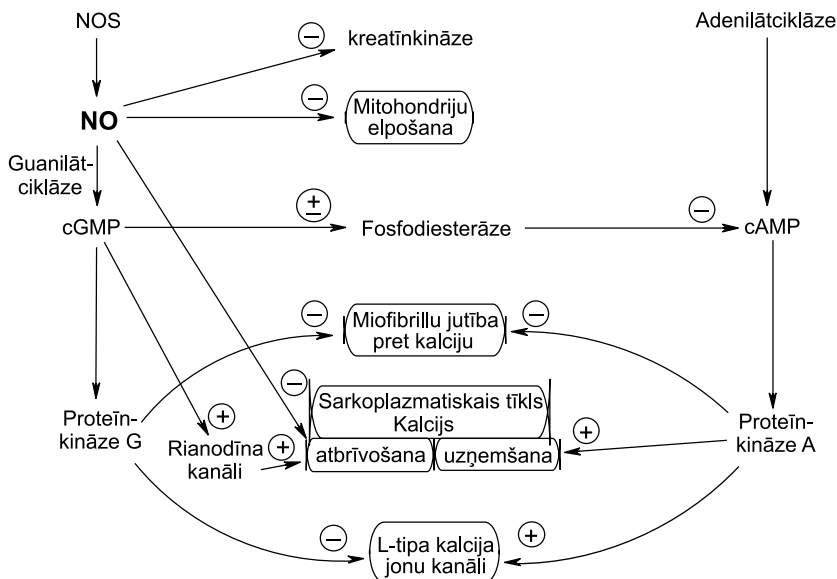
Kardiomiocītu sarkoplazmatiskajā tīklā notiek kalcija jonu secīga saistīšana un atbrīvošana sarkoplazmas kontraktīlo proteīnu tuvumā, līdz ar to tiek regulēta sirds muskuļa saraušanās un atslābšana [30]. NO ir svarīga nozīme Ca²⁺ homeostāzes un miokarda kontraktīlo funkciju regulēšanā. Ietekmes vietas ir vairākas (sk. 6. att.), summāri NO atkarībā no apstākļiem var gan pastiprināt, gan pavājināt adrenalīna β -receptoru efektus, kuri notiek ar cikliskā adenozinmonofosfāta (cAMP) starpniecību.

NO neatkarīgi no guanilātciklāzes inhibē kreatīnkināzi (nitrozilējot -SH grupas), kavē mitohondrijos oksidatīvo fosforilēšanos (elpošanas ķēdes I, II, IV kompleksā saistoties pie ārpushēma Fe²⁺), eNOS veidotais NO inhibē kalcija izešanu no sarkoplazmatiskā tīkla caur rianodīna receptoru atkarīgajiem kalcija kanāliem.

Guanilātciklāzes atkarīgā ceļā notiek šādi procesi:

- cGMP alostēriki var inhibēt vai stimulēt fosfodiesterāzi, kas hidrolizē cAMP,
- cGMP aktivē proteīnkināzi G, kas fosforilē miofibrillās esošo troponīnu I un samazina miofibrillu jutību pret kalciju vai arī iedarbojas uz L-tipa kalcija jonu kanāliem, samazinot Ca²⁺ jonu atbrīvošanos,

- cGMP aktivē Ca^{2+} atbrīvošanos caur rianodīna receptoru atkarīgajiem kalcija kanāliem [29].



6. att. NO ietekmes vietas kardiomiocītu kontraktīlās funkcijas regulācijā (+) – stimulējoša ietekme, (–) – inhibējoša ietekme

Smadzenes

Smadzenēs atrodamas trīs NOS izoformas: nNOS – neironos, eNOS – asinsvados un iNOS – glijā. Smadzenēs NO funkcija ir ļoti daudzveidīga. NO darbojas kā nervu impulsu pārnēsētājs. Uzbudinošās aminoskābes (glutamāts, aspartāts, NMDA, kaināts) palielina Ca^{2+} jonu koncentrāciju nervu šūnā un aktivē nNOS, kas sintezē NO. Tālāk NO var darboties autokrīni vai parakrīni, nodrošinot signālpārnesi cGMP atkarīgā (aktivējot šķīstošo guanilātciklāzi) vai neatkarīgā ceļā. NO gan pārnes nervu impulsus sinapsēs, gan nodrošina starpneironu sakarus (angl. *gap junctions*). Išēmijas apstākļos NO veidojas ļoti augstās koncentrācijās, kam ir neitoksiska iedarbība. NO lipofilitāte nosaka tā spēju viegli difundēt caur šūnas membrānu. Tādējādi NO var nodrošināt gan anterogrādu, gan retrogrādu signālpārnesi sinapsē. Tiek uzskatīts, ka NO piedalās „mācīšanās” procesā [31].

NO regulē smadzeņu asinsvadu tonusu lielajās cerebrālajās artērijās, kā arī cerebrālajā mikrocirkulācijā. Endotēlijs veido NO gan bazālā līmenī, gan pastiprināti, atbildot uz dažādiem vazoaktīviem stimuliem. Endotēlijatkarīgo vazodilatāciju var traucēt patofizioloģiski stāvokļi (išēmija). Neironālās izcelsmes NO var izraisīt lokālu cerebrālās asinsrites pieaugumu, atbildot uz cerebrālā metabolisma pastiprināšanos. NO atkarīgu cerebrālās asinsrites pieaugumu var novērot, ja tiek aktivētas parasimpātiskās šķiedras, kas inervē smadzeņu asinsvadus, kā arī hiperkapnijas laikā [32].

Astrocīti un mikroglija var veidot ievērojamus NO daudzumus pēc iNOS indukcijas ar endotoksīniem un citokīniem. Tas var izraisīt citotoksiskus efektus išēmijas laikā vai pēc tās [33].

NO ietekmē smadzeņu neuroendokrīno funkciju. Hipotalāmā ekspresējas visas NOS izoformas, visvairāk – nNOS. Tā ir lokalizēta tajos kodolos, kur sintezējas hipofīzes neuropeptīdi. NO iedarbojas vai nu autokrīni (kortikotropīnu atbrīvojošais hormons, vazopresīns un oksitocīns), vai parakrīni (gonadotropīnu atbrīvojošais hormons). NO inhibē vazopresīna un oksitocīna sekrēciju, inhibīciju pastiprina osmotiski stimuli, proti, dehidratācija, laktācija. NO modulējošā ietekme uz oksitocīna sekrēciju regulē arī tādas hipotalāma funkcijas kā erekcijas centrālo kontroli un žāvāšanos. NO ietekmē (gan inhibējoši, gan stimulējoši atkarībā no stresoru dabas) tā saucamo hipotalāma–hipofīzes–adrenālo asi, modulējot kortikotropīnu atbrīvojošā hormona sekrēciju. NO aktivē hipotalāma–hipofīzes–gonadālo asi, stimulējot gan *in vivo*, gan *in vitro* gonadotropīna atbrīvojošā hormona sekrēciju [34, 32].

Perifērā nervu sistēma

NO ir neurotransmiters autonomos neadrenerģiskos neholīnerģiskos (NANC) jeb t. s. nitrerģiskajos nervos. Tajos esošā nNOS, kas ir homologiska CNS esošajai nNOS, ir izvietota vienmērīgi visā nervu šūnā, tādēļ NO izdalīšanās notiek visā nitrerģiskā nerva šķiedras garumā gan sinapsēs, gan ārpus tām. NO-atkarīgā transmisija visbiežāk ir autonomās nervu sistēmas parasimpatiskās postganglionārās šķiedrās. Nitrerģisko nervu fizioloģiskā funkcija ir gludās muskulatūras relaksācija. Galvenās nitrerģisko nervu lokalizācijas vietas ir: uroģenitālais, gremošanas un elpošanas trakts, kā arī smadzeņu un kavernozo audu asinsvadi. Nitrerģiskie nervi ir atrasti arī citu orgānu vaskulatūrā: nierēs, bronhos, dzemdē, acs tīklenē, kā arī arteriovenozajās anastomozēs. Nitrerģiskie neironi ir atrasti galvas smadzeņu garozā, hipokampā, *bulbus olfactorius* [35].

Elpošanas sistēma

Elpceļos ir ekspresētas visas trīs NOS izoformas. eNOS ir atrodama plaušu asinsvadu endotēlijā. iNOS ekspresējas elpceļu epitēlijšūnās, elpceļu un asinsvadu gludās muskulatūras šūnās, kā arī imūnšūnās. nNOS ir atrodama bronhu epitēlijā un plaušu nervu audos [36]. Lielākie NO avoti plaušās ir epitēliālās šūnas un imūnšūnas (T šūnas, makrofāgi), kur ekspresējas iNOS, jo plaušas ir orgāns, kas darbojas arī kā imonoloģiskais filtrs. Turklāt NO piemīt arī bronhus un plaušu asinsvadus paplašinoša funkcija [21].

Aknas

Aknās ir atrodamas visas trīs NOS izoformas. Konstitūtīvās NOS izoformas ir makrofāgos–rezidentos (Kupfera šūnās), bet hepatocītos tās neekspresējas. Īpaši svarīga nozīme aknu darbībā ir iNOS, kas pēc indukcijas ekspresējas visās aknu šūnās – hepatocītos, asinsvadu endotēlijšūnās, Kupfera šūnās, žults kanālu šūnās un tuklajās šūnās [37].

NO funkcija hepatocītu funkcionālās aktivitātes regulācijā ir daudzveidīga. Insulīna darbība, glikozes homeostāzes uzturēšana notiek ar NO starpniecību. NO donori nomāc glikogenolīzi dzīvnieku aknās. Sepses modeļos NO inhibē glikoneoģenēzi. NO koncentrācija aknās ir atkarīga no uztura uzņemšanas, lipīdi inducē iNOS ekspresiju [38].

Gremošanas trakts

Kuņģī un zarnu traktā ir visas trīs NOS izoformas. nNOS ekspresējas nitrēģiskajos nervos, kas lielā skaitā atrodami zarnu sienīnās, kā arī epitēlijšūnās. eNOS atrodas asinsvadu endotēlijā un barības vada apakšējā slēdžējmuskuļa šūnās. iNOS ekspresiju izraisa gremošanas traktā esošie aktivētie neitrofilie leukocīti, limfocīti, fagocīti, iekaisuma apstākļos – arī zarnu sienīņu epitēlijšūnas un nervu šūnas. Kopumā NO ir ļoti nozīmīgs kuņģa un zarnu trakta gļotādas aizsargājošs faktors, kas ietekmē vairākus procesus [39].

Epitēlijšūnās NO stimulē gļotu, bikarbonātu un sāļu sekrēciju. Rezultātā gļotu slānis kļūst biežāks un labāk pasargā gļotādu no bojājumiem [40].

Epitēlijšūnu veidotais NO difundē zarnu sienīņu saistaudos, kur atrodas daudz tuklo šūnu. Tām ir pretiekaisuma funkcija – tās izdala histamīnu, trombocītus aktivējošo faktoru, leukotriēnus, endotēlinu, ANF- α un citas bioloģiski aktīvas vielas, kas augstas tuklo šūnu aktivitātes gadījumā kaitīgi iedarbojas arī uz gļotādu. NO kavē tuklo šūnu degranulāciju, t. i., samazina to aktivitāti [39].

NO ietekmē gļotādas makrofāgu darbību. Makrofāgi veido NO lielās koncentrācijās, kas ar superoksīda radikāli (O_2^-) rada ļoti toksisko peroksinitrīta anjonu (ONOO⁻), kurš nogalina baktērijas, vienlaikus nesaudzējot arī gļotādas šūnas un makrofāgus. Arī citas makrofāgu izdalītās bioloģiski aktīvās vielas (IL-1, IL-12, ANF- α) lielās koncentrācijās izraisa iekaisumu un bojā gļotādu. Aspirīns kopā ar ANF- α ierosina epitēlijšūnu apoptozi, kas izraisa gļotādas novājināšanos. NO kavē apoptozi epitēlijšūnās, inhibējot kaspāzes [41].

Kuņģa un zarnu arteriolu endotēlija izdalītais NO nodrošina gļotādas reaktīvās hiperēmijas reakciju, līdz ar to tiek aizsargāta gļotāda. Hiperēmija iestājas dažādu kairinātāju ietekmē, arteriolas atslābst, un uzlabojas gļotādas apasiņošana, tiek aizvadīti gļotādā iekļuvušie toksīni. Šādi kairinātāji ir acetilholīns, bradikinīns, histamīns un citi mediatori, ko izdala zarnās esošās nervu šūnas pēc to sensoro receptoru kairināšanas. Kuņģī tos kairina arī sāļsskābe, ja tā iekļuvusi gļotādā. Ja kuņģa gļotādā iznīcina sensoros nervus, šāda gļotāda kļūst viegli traumējama. Tas pats notiek, ja eksperimenta dzīvniekiem nomāc NO sintēzi [39].

NO paātrina rētošanās procesus. Tas nodrošina pilnvērtīgu asinsapgādi čūlas malās un sekmē angiogēnēzi, kas veicina čūlas reepitelizāciju. NO stimulē fibroblastus, sekmē kolagēna izdali čūlas pamatā. Eksperimentāli pierādīts, ka NO donori sekmē kuņģa čūlas sadzīšanu, bet NOS inhibitori dzīšanas procesu kavē [40].

Iekaisuma apstākļos ļoti stipri pieaug NO sintēze, tiek nomākta zarnu epitēlijšūnu funkcija – NO šajos apstākļos kavē gļotu izdali, mazina gļotādas aizsargspējas, veicina epitēlijšūnu apoptozi, veido peroksinitrīta anjonu [41].

Nieres

NO kā parakrīns regulators kontrolē nieru vispārējo un reģionālo asinsriti, renālo autoregulāciju, glomerulāro filtrāciju un sāls ekskrēciju.

Nieru vaskulatūrā ekspresējas eNOS, kuras veidotais NO darbojas kā vazodilatators. Šī endoteliālās izcelsmes NO sistēma darbojas pretī angiotenzīna II vazokonstriktorajai ietekmei kā nieru perfūzijas spiediena īslaicīgu svārstību adaptīvs

mehānisms. Endoteliālā NO sistēma aktivējas, pieaugot perfūzijas spiedienam un asins formelementu berzes radītajam stresam un kavē renīna biosintēzi Jukstglomerulārajā kompleksā.

Macula densa ekspresējas nNOS, kas regulē adaptāciju ilglaicīgām nātrija koncentrācijas svārstībām asinīs un pirmurīnā, tā veicina renīna biosintēzi un sekrēciju. *Macula densa* NO sistēma uz perfūzijas spiediena paaugstināšanos reaģē pretēji: paaugstināts perfūzijas spiediens izraisa distālā kanāliņa spiediena pieaugumu, tās aktivitāte samazinās, un līdz ar to renīna biosintēze tiek kavēta. Abas šīs sistēmas kopā atbild par adekvātu vazodilatāciju nierēs un renīna sekrēciju un uztur adekvātu ekstracelulārā šķidruma tilpumu [42].

Macula densa esošā nNOS regulē ciklooksigenāzes ekspresiju, tādā veidā mijiedarbojoties ar renīna-angiotenzīna sistēmu, ko regulē prostaglandīni [43].

Nieru serdes šūnu NOS sintezētais NO kontrolē arteriālo spiedienu [43] un ir spēcīgs nieru asinsvadu paplašinātājs, kas darbojas, inhibējot fosfodiesterāzi [44]. NO reaģē ar O_2^- radikāļiem Jukstglomerulārajā kompleksā, kas nodrošina tubuloglomerulāras atgriezeniskās saites regulāciju [45, 46, 47].

Dzimumorgāni

Dzemdē NO funkcijas ir šādas: tas uztur asinsvadu tonusu, iniciē un kontrolē menstruālo asiņošanu, inhibē trombocītu agregāciju endometrijā, regulē glikozes patēriņu miometrijā, samazina endotēliņa izdalīšanos endometrijā interleikīna $1-\beta$ ietekmē un līdz ar to veicina gludās muskulatūras šūnu atslābšanu. Grūtniecības un dzemdību laikā NO regulē dzemdes gludās muskulatūras šūnu kontraktīlo aktivitāti. Grūtniecības beigās NO koncentrācija samazinās. Tas veicina miometrija tonusa palielināšanos [48]. NO donoriem raksturīgs atslābinošs efekts uz miometrija audiem [49].

NO piedalās arī dzimumlocekļa erektilajā funkcijā [50].

Imūnsistēma

Augstās koncentrācijās NO iedarbojas citostatiski un (vai) citotoksiski. Tas nosaka tā spēju būt šūnu imunitātes efektoram. Galvenā loma imūnajā atbildē ir iNOS, kas pēc indukcijas ar citokīniem ekspresējas makrofāgos, mikroglijas, astroglijas un ļoti daudzās citās šūnās, arī neironos, asinsvadu endotēlijā un gludās muskulatūras šūnās. Daudz iNOS ir orgānos, kas ir imunoloģiskie filtri: aknās (Kupfera šūnās, hepatocītos) un plaušās (makrofāgos, bronhu epitēlijšūnās).

NO piemīt antibakteriāla darbība, kas ir vērsta pret visiem patogēnajiem organismiem – vīrusiem, baktērijām, vienšūņiem, sēnītēm, helmintiem. To īsteno monocīti, makrofāgi, mikroglija, neitrofili, eozinofili, fibroblasti, hepatocīti, endotēlijšūnas, epitēlijšūnas, astroglija. Tā notiek praktiski visos orgānos gan akūtu, gan hronisku infekciju gadījumos. Pierādīts, ka NO piedalās imūnajā atbildē pret tādiem bioloģiskiem aģentiem kā *Mycobacterium tuberculosis*, *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma spp.*, *Leishmania spp.*, *Trypanosoma cruzi* [51]. NO var sadarboties arī ar citām efektormolekulām, ko izdala fagocīti un neitrofilie leukocīti, piemēram, O_2^- un H_2O_2 . NO ar O_2^- veido ļoti spēcīgu oksidētāju – peroksinitrīta anjonu, kas nitrozilē jāt tirozīna atlikumus mikroorganismos, tos nogalina.

NO nomāc T-limfocītu proliferāciju, modulē citokīnu atbildi. NO samazina leukocītu adhēziju pie asinsvadu endotēlija un tai sekojošu infiltrāciju.

NO ir būtiska nozīme arī transplantātu autoimūnās atgrūšanas reakcijās [2].

Trombocīti

Trombocīti nodrošina asins recēšanas procesu, izdalot tromboksānu 2 un spēcīgu vazokonstriktoru – endotelīnu. Galvenie trombocītu funkciju endogēnie inhibitori ir prostaglandīnu pārstāvis prostaciklīns un NO. Bazāla vai stimulēta NO produkcija inhibē trombocītu agregāciju un pagarina asiņošanas laiku. NO, kas piedalās trombocītu aktivitātes regulācijā, veidojas gan asinsvadu endotēlijā, gan pašos trombocītos, kur ir atklāta eNOS un iNOS proteīnu klātbūtne [52].

LITERATŪRA

1. Schwartz S. E., White W. H. *In: Trace Atmospheric Constituents. Properties, Transformation and Fates.* John Wiley and Sons, 1983, pp. 1–117.
2. Moncada S., Palmer R. M. J., Higgs E. A. *Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology.* Pharmacol. Rev. 1991, 43: pp. 109–142.
3. Griffith O. W., Stuehr D. J. *Nitric Oxide Synthases: Properties and Catalytic Mechanism.* Annu. Rev. Physiol. 1995, 157: pp. 707–736.
4. Xia Y., Dawson V. L., Dawson T. M., Snyder S. H., Zweier J. L. *Nitric Oxide Synthase Generates Superoxide and Nitric Oxide in Arginine-Depleted Cells Leading to Peroxynitrite-Mediated Cellular Injury.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996, 93: pp. 6770–6774.
5. Knowles R. G., Moncada S. *Nitric Oxide Synthases in Mammals.* Biochem. J. 1994, 298: pp. 249–258.
6. List B. M., Klosch B., Volker C., Gorren A. C., Sessa W. C., Werner E. R., Kukovetz W. R., Schmidt K., Mayer B. *Characterization of Bovine Endothelial Nitric Oxide Synthase as Homodimer with Down-Regulated Uncoupled NADPH Oxidase Activity: Tetrahydrobiopterin Binding Kinetics and Role of Haem in Dimerization.* Biochem. J. 1997, 323: pp. 159–165.
7. Stuehr D. J. *Structure-Function Aspects in the Nitric Oxide Synthases.* Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1997, 37: pp. 339–359.
8. Garcia-Gardena G., Martasek P., Masters B. S., Skidd P. M., Couet J., Li S., Lisanti M. P., Sessa W. C. *Dissecting the Interaction Between Nitric Oxide Synthase (NOS) and Caveolin. Functional Significance of the NOS Caveolin Binding Domain in Vivo.* J. Biol. Chem. 1997, 272: pp. 25437–25440.
9. Marietta M. A. *Nitric Oxide Synthase: Aspects Concerning Structure and Catalysis.* Cell. 1994, 78: pp. 927–930.
10. Hecker M., Mulsch A., Busse R. *Subcellular Localization and Characterization of Neuronal Nitric Oxide Synthase.* J. Neurochem. 1994, 62: pp. 1524–1529.
11. Nunokawa Y., Oikawa S., Tanaka S. *Human Inducible Nitric Oxide Synthase Gene is Transcriptionally Regulated by Nuclear Factor K β -Dependent Mechanism.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 1996, 223: pp. 347–352.
12. Nathan C., Xie Q.-W. *Nitric Oxide Synthases: Roles, Tolls, and Controls.* Cell. 1994, 78: pp. 915–918.
13. Ducrocq C., Servy C., Cudic M., Blanchard B. *Intervention Du Monoxide D'azote, NO, Et De Ses Dérivés Oxidés, Particulièrement Chez Les Mammifères.* Can. J. Physiol. Pharmacol. 2001, 79: pp. 95–102.

14. Musial A., Eissa N. T. *Inducible Nitric-Oxide Synthase is Regulated by the Proteasome Degradation Pathway*. J. Biol. Chem. 2001, 276 (26): pp. 24268–24273.
15. Grisham M. B., Jourdain D., Wink D. A. *Nitric Oxide I. Physiological Chemistry Of Nitric Oxide and its Metabolites: Implications in Inflammation*. Amer. Physiol. Soc. 1999. G315–G321.
16. Wink D. A., Mitchell J. B. *The Chemical Biology of Nitric Oxide: Insights into Regulatory, Cytotoxic and Cytoprotective Mechanisms of Nitric Oxide*. Free Rad. Biol. Med. 1998, 25: pp. 434–456.
17. Darley-Usmar V., Wiseman H., Halliwell B. *Nitric Oxide and Oxygen Radicals: a Question of Balance*. FEES Letters. 1995, 369: pp. 131–135.
18. Данилович Ю. В. *Взаимосвязь образования NO и H₂O₂ и их роль в регуляции ионного гомеостаза клеток*. Укр. біохім. журн. 2001, 73 (3): с. 5–20.
19. Ванин А. Ф. *Оксид азота: регуляция клеточного метаболизма без участия системы клеточных рецепторов*. Биофизика. 2001, 46 (4): с. 631–641.
20. Проскуряков С. Я., Коноплянников А. Г., Иванников А. И., Скворцов В. Г. *Биология окиси азота*. Успехи современной биологии. 1999, 119: с. 380–395.
21. Гуревич К. Г., Шимановский Н. Л. *Оксид азота: биосинтез, механизмы действия, функции*. Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. 2000, 4: с. 16–21.
22. Kerwin J. F. Jr., Lancaster J. R. Jr., Feldman P. L. *Nitric oxide: a New Paradigm for Second Messengers*. J. Med. Chem. 1995, 38: pp. 4343–4362.
23. Ignarro L., Murad F., ed. *Nitric oxide: Biochemistry, Molecular Biology and Therapeutic Implications*. Advances in Pharmacology. 34: Academic Press, San Diego, CA. 1995.
24. Furchgott R. F., Vanhoutte P. M. *Endothelium-Derived Relaxing and Contracting Factors*. FASEB J. 1989, 3: pp. 2007–2018.
25. Muller B., Kleschyov A. L., Alencar J. L., Vanin A., Stoclet J.-C. *Nitric Oxide Transport and Storage in the Cardiovascular System*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2002, 962: pp. 131–139.
26. Huang K.-T., Han T. H., Hyduke D. R., Vaughn M. W., Van Herle H., Hein T. W., Zhang C., Kuo L., Liao J. C. *Modulation of Nitric Oxide Bioavailability by Erythrocytes*. PNAS. 2001, 98: pp. 11771–11776.
27. Pawloski J. R., Hess D. T., Stamler J. S. *Export by Red Blood Cells of Nitric Oxide Bioactivity*. Nature. 2001, 409: pp. 622–626.
28. Gross S. S. *Targeted Delivery of Nitric Oxide*. Nature. 2001, 409: pp. 577–578.
29. Balligand J.-L. *Regulation of Cardiac Function by Nitric Oxide*. In: Handbook of experimental pharmacology, V 143, Nitric oxide, Mayer B., ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 2000, pp. 207–234.
30. Tunwell R. E. A., Wickenden C., Bertrand B. M. A., Shevchenko V. I., Walsh M. B., Allen P. D., Lai F. A. *The Human Cardiac Muscle Ryanodine Receptor-Calcium Release Channel: Identification, Primary Structure and Topological Analysis*. Biochem. J. 1996, 318: pp. 477–487.
31. O'Dell T. J., Hawkins R. D., Kandel E. R., Arancio O. *Tests of the Roles of Two Diffusible Substances in Long-Term Potentiation: Evidence for Nitric Oxide as a Possible Early Retrograde Messenger*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991, 88: pp. 11285–11289.
32. Gartwaite J. *The Physiological Roles of Nitric Oxide in the Central Nervous System*. In: Handbook of experimental pharmacology, V 143, Nitric oxide, Mayer, B., ed., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, 2000, pp. 259–275.
33. Pou S., Keaton L., Surichamorn W., Rosen G. M. *Mechanism of Superoxide Generation by Neuronal Nitric-Oxide Synthase*. J. Biol. Chem. 1999, 274: pp. 9573–9580.

34. Ng Y. K., Xue Y. D., Wong P. T.-H. *Different Distributions of Nitric Oxide Synthase-Containing Neurons in the Mouse and Rat Hypothalamus*. Nitric Oxide: Biology and Chemistry. 1999, 3: pp. 383–392.
35. Martin W. *The Role of Nitric Oxide in the Peripheral Nervous System*. In: Handbook of experimental pharmacology, V 143, Nitric oxide, Mayer, B., ed., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2000, pp. 277–313.
36. Fagan K. A., Morrissey B., Fouty B. W., Sato K., Harral J. W., Morris K. G., Hoedt-Miller M., Vidmar S., McMurtry I. F., Rodman D. M. *Upregulation of Nitric Oxide Synthase in Mice with Severe Hypoxia-induced Pulmonary Hypertension*. Respir. Res. 2001, 2: pp. 306–313.
37. Muriel P. *Regulation of Nitric Oxide Synthesis in the Liver*. J. Appl. Toxicol. 2000, 20: pp. 189–195.
38. Wan G., Ohnami S., Kato K. *Increased Hepatic Activity of Inducible Oxide Synthase in Rats Fed on a High-Fat Diet*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2000, 64: pp. 555–561.
39. Danilāns A. *Gāze ar Jānusa seju*. Doctus. 2002, 1: 22.–26. lpp.
40. Wallace J. L., Moller M. J. S. *Nitric Oxide in Mucosal Defense: a Little Goes a Long Way*. Gastroenterology. 2000, 119: pp. 512–520.
41. Linn S. C., Morelli P. J., Edry L., Cottongim S. E., Szabo C., Salzman A. L. *Transcription Regulation of Human Inducible Nitric Oxide Synthase Gene in an Intestinal Epithelial Cell Line*. Am. J. Physiol. 1997, 272: G1499–G1508.
42. Mattson D. L., Wu F. *Control of Arterial Blood Pressure and Renal Sodium Excretion by Nitric Oxide Synthase in the Renal Medulla*. Acta Physiol. Scand. 2000, 168: pp. 149–154.
43. Graam B., Turkstra E., Koomans H. A. *Concerted Actions of Renal Endothelial and Macula Densa NO Systems in the Maintenance of Extracellular Fluid Volume*. Acta Physiol. Scand. 2000, 168: pp. 125–132.
44. Carey R. M., Jin X., Wang Z., Siragy H. M. *Nitric Oxide: a Physiological Mediator of the Type 2 (AT2) Angiotensin Receptor*. Acta Physiol. Scand. 2000, 168: pp. 65–71.
45. Kurtz A., Götz K.-H., Hamann M., Sander P. *Mode of Nitric Oxide Action on the Renal Vasculature*. Acta Physiol. Scand. 2000, 168: pp. 41–46.
46. Harris R. C., Cheng H.-F., Wang J.-L., Zhang M.-Z., Kanna J. A. *Interactions of the Renin-Angiotensin System and Neuronal Nitric Oxide Synthase in Regulation of Cyclooxygenase-2 in the Macula Densa*. Acta Physiol. Scand. 2000, 168: pp. 47–54.
47. Wilcox C. S., Welsh W. J. *Interaction Between Nitric Oxide and Oxygen Radicals in Regulation of Tubuloglomerular Feedback*. Acta Physiol. Scand. 2000, 168: pp. 119–124.
48. Myatt L., Brockman D. E., Eis A. L., Pollock J. S. *Immunohistochemical Localization of Nitric Oxide Synthase in the Human Placenta*. Placenta. 1993, 14: pp. 487–495.
49. Weiner C. P., Knowles R. G., Moncada S. *Induction of Nitric Oxide Synthases Early in Pregnancy*. Am. J. Obstet. Gynecol. 1994, 171: pp. 838–843.
50. Reilly C. M., Zamorano P., Stopper V. S., Mills T. M. *Androgenic Regulation of NO Availability in Rat Penile Erection*. J. Androl. 1997, 18: pp. 110–115.
51. Bogdan C. *The Function of Nitric Oxide in the Human Immune System*. In: Handbook of experimental pharmacology, V 143, Nitric oxide, Mayer, B., ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 2000, pp. 443–492.
52. McNaughton L., Radomski A., Sawicki G., Radomski M. *Regulation of Platelet Funktion*. In: Handbook of experimental pharmacology, V 143, Nitric oxide, Mayer, B., ed., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2000, pp. 325–357.

Summary

Nitric oxide (NO) is a small molecule, gas, free radical, it has different functions in organism. NO is formed from L-Arginine in the oxidative process, that is catalysed by enzymes NO synthases (NOS's) (endothelial NOS, neuronal NOS and inducible NOS). NO is involved in reactions (with protein haem or non-haem Fe atoms, free radicals reactions, nitrosylation of –SH groups in proteins, etc) that provide biological function of NO as well as its toxic effects. At physiological concentrations NO regulates the tonus of blood vessels, acts as a neurotransmitter, regulates adhesion of leukocytes and activity of platelets. At higher concentrations NO has cytotoxic activity and participates in cell immune response.

Medicīnas pakalpojumu cenu aprēķināšanas metode

Arkādijs Gandzs

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: lumedi@lu.lv

Anatolijs Bļugers

Rīgas slimnīca „Bikur Holim”
Maskavas iela 122/128, Rīga, LV-1003
E-pasts: bikur@latnet.lv

Medicīnas pakalpojumu cenu pieaugums ir viena no galvenajām sociālajām problēmām visās valstīs. Savukārt mākslīga cenu fiksēšana var novest un arī noved pie medicīnas aprūpes sistēmas degradācijas. Tādēļ liela nozīme ir medicīnas pakalpojumu pašizmaksas zinātniskam pamatojumam un tehnoloģisko līdzekļu izstrādei, kas dod iespēju īstenot praksē pašizmaksas aprēķinus un pārdošanas cenu novērtējumu.

Lai sasniegtu šo mērķi, esam izstrādājuši modeli MEDCENA, kas īstenots kā programmu komplekss. Modelis dod iespēju aprēķināt medicīnas pakalpojumu pašizmaksu, izmantojot visas mūsdienu tehnoloģiju iespējas un ievērojot daudzu faktoru ietekmi uz cenu.

Modelis MEDCENA ir aprobēts praksē un var tikt izmantots kā darba instruments jebkurā vadības līmenī veselības aprūpē.

Atslēgvārdi: medicīnas tehnoloģijas, resursi, pašizmaksa.

Key words: medical technologies, resources, prime cost.

Sakarā ar Valsts investīciju programmas 2006.–2010. gadam realizācijas uzsākšanu nepārtrauktās reformas veselības aprūpes sistēmā kļūst konkrētas un mērķtiecīgas. Šādos apstākļos arvien lielāka nozīme ir ekonomiskās efektivitātes paaugstināšanai un iespējami racionālai resursu izmantošanai, lai sasniegtu veselības aprūpei izvirzītos mērķus [1, 2].

Mūsdienās veselības aprūpes iestāžu darbu nodrošina tūkstošiem tehnoloģisko procesu. Katru gadu tiek ieviestas praksē simtiem jaunu un dārgu tehnoloģiju, kas klīniskajā praksē drīz kļūst par rutīnu. Šāda situācija izraisa medicīniskās palīdzības (pakalpojumu) ievērojamu sadārdzināšanos [3, 4].

Medicīnas pakalpojumu arvien pieaugošās izmaksas liek pat ekonomiski augsti attīstītām valstīm meklēt veidus, kā noturēt medicīnas aprūpes cenu pieaugumu [5, 6]. Tomēr pieredze rāda, ka centieni administratīvi regulēt cenas un novērst to pieaugumu ir nesekmīgi [7, 8, 9]. Šai sakarā īpašu aktualitāti iegūst cenu zinātniskā pamatojuma metodes. Tās ir vienkārši lietojamas, pieejamas plašam medicīnas darbinieku lokam, nav dārgas un neprasa lielus laika, materiālu un kadru resursu patēriņus.

Cenu veidošana medicīnas aprūpē dažādu iemeslu dēļ nav guvusi dziļu teorētisko pamatojumu un plašu praktisko lietojumu. Sevišķa nozīme cenu aprēķināšanai ir tā saucamo regulējamo tirgus attiecību apstākļos, kad cenu veidošanas noteicošie faktori

nav tikai piedāvājums un pieprasījums. Tā kā nav droša un praktiska cenu aprēķina un pamatojuma instrumenta, cenu "regulācijas" process ir pakļauts administratīvam diktātam un visa tirgus attiecību būtība un vērtība kļūst nenozīmīga.

Pirms kāda laika mēs piedāvājām un aprobējām veselības aprūpes resursu apgādes novērtēšanas metodiku [10,11]. Piedāvātā sistēma ietver dažāda veida resursus (darbaspēks, patēriņa resursi, aparatūra), kas tiek izmantoti ikvienā medicīniski tehnoloģiskā procesā, apkopo analīzi līdz vienotam rādītājam, izmanto ikdienas praksē pieejamos datus. Sistēmu lieto dažādiem tehnoloģiskajiem procesiem, tā ļauj veikt aprēķinus īsā laika posmā, tai nav nepieciešami lieli materiālie un finanšu ieguldījumi [12,13].

Mūsu piedāvātā metode dod iespēju izskaitļot medicīnas pakalpojuma pašizmaksu, kas, kā zināms, ir atkarīga no izdevumiem par aparatūras iepirkšanu, uzstādīšanu un nodošanu ekspluatācijā; par personāla apmācību; par procesā iesaistīto darbinieku algām; algas nodokli; no izdevumiem par komunālajiem pakalpojumiem, patēriņa materiāliem, aparatūras amortizāciju, pieskaitāmajiem izdevumiem u. c. Paralēli nepieciešams ņemt vērā veikto (vai plānoto) medicīnas pakalpojumu skaitu konkrētā laika posmā, jo tas arī ietekmē pašizmaksu.

Procedūras pašizmaksas aprēķinu veic pēc šādas formulas:

$$C_{i(t)} = \frac{S_i + Z_{i(t)}^{Pi} + Z_{i(t)}^{Ri} + N_{i(t)}}{K_{i(t)}} \quad (1),$$

kur:

$C_{i(t)}$ – i-tā tehnoloģiskā procesa medicīnas pakalpojuma pašizmaksa laika posmā t,

$K_{i(t)}$ – laika posmā t veikto medicīnas pakalpojumu skaits,

S_i – izdevumi par aparatūras iegādi (S_{ob}), instalāciju (S_{inst}) un personāla apmācību (S_{pers}),

$Z_{i(t)}^{Pi}$ – apkalpojošā personāla alga kopā ar sociālo nodokli laika posmā t,

$Z_{i(t)}^{Ri}$ – izdevumi par patēriņa materiāliem laika posmā t,

$N_{i(t)}$ – pieskaitāmie, komunālie u. c. izdevumi laika posmā t.

$$S_i = \frac{S_{ob} + S_{inst} + S_{pers}}{T_a} \quad (2),$$

kur T_a – plānotais aparatūras amortizācijas laiks.

Neefektīvi izmantojot resursus (aparātūras dīkstāve), kas iesaistīti tehnoloģiskajā procesā, medicīnas pakalpojuma pašizmaksa ievērojami sadārdzinās. Tas negatīvi ietekmē konkrētā medicīnas pakalpojuma rādītājus un (vai) tā lietojumu.

Piedāvātā metode medicīnas pakalpojuma pašizmaksas aprēķinam tika īstenota kā programmu komplekss MEDCENA.

Programmu komplekss MEDCENA ir paredzēts cenas noteikšanai, pamatojoties uz medicīnas pakalpojumu pašizmaksas aprēķinu, ja ir dažāds pacientu pieplūdums, dažāds tehnoloģiskais process, dažādas personāla darba algas un pieskaitāmie izdevumi, dažādi aparātūras amortizācijas termiņi.

Modeļa MEDCENA īstenošana ļauj:

- izstrādāt jebkura tehnoloģiskā procesa darbības variantus imitācijas režīmā, ievērojot iespējamo (prognozējamo) situāciju, ko ietekmē pacientu skaits, aparātūras izmantošanas ilgums, dažādi darba samaksas varianti, iegādātās vai plānotās aparātūras dārdzība, dažādi aparātūras amortizācijas termiņi, izdevumi personāla apmācībai un tehniskajai apkopei;
- izstrādāt pamatotus cenrāžus un medicīnas pakalpojumu tarifus, pamatojoties uz pašizmaksas rādītājiem;
- kontrolēt medicīnas pakalpojumu cenu līmeni;
- noteikt (prognozēt) veselības aprūpes iestādes, reģionālās struktūras un nozares kopumā spēju izpildīt medicīnas pakalpojumu apjomu iedalītā asignējuma ietvaros;
- veikt korekcijas dažādu medicīnas pakalpojumu cenu veidošanā atkarībā no iepērkamās aparātūras un tās ekspluatācijas cenu izmaiņām, izmaiņām darba samaksā un nodokļu nomaksās.

Programmu komplekss MEDCENA ir ērti lietojams, tam nav nepieciešami speciāli izdevumi informācijas ievākšanai, tas ātri veic datu apstrādi, dod iespēju arhivēt iegūtos pētījumu rezultātus un operatīvi reaģēt uz pacientu plūsmas izmaiņām, pieskaitāmo izdevumu izmaksām u. c.

N EKS	T ST(q)	R MST	t 1ST	T MST(P)	Q MST	V MST	Z P(M)ST	N MST	S OBST	S _{inst} ST	S PST	T AST	C RST	D ST
I	500	500	1.0	500	500	26	1800	1000	20000	500	250	36	6.75	0
II	500	500	1.0	500	350	26	1800	1000	20000	500	250	36	6.75	-6
III	500	500	1.0	300	500	26	1000	1000	20000	500	250	36	8.59	7
IV	600	600	1.0	600	600	26	2100	1100	20000	500	250	36	6.13	0
V	600	600	1.0	600	600	26	2100	1100	15000	300	150	36	5.27	0

T **ST(q)** – stomatoloģijas kabineta varbūtējais darbības laiks mēnesī (stundās)

R **MST** – patērējamie resursi, ko izmanto procedūru veikšanai (plombēšanas materiāli, salvetes, cimdi u. c.) un iepērk vienam mēnesim (vien.)

t **1ST** – laiks, ko personāls patērē vienas procedūras veikšanai (stundās)

T **MST(P)** – personāla nodarbinātības laiks mēnesī (slodzes pēc štatu saraksta) (stundās)

Q **MST** – gadījumu pacientu skaits mēneša laikā (apmeklējumu)

V **MST** – darba dienas (maiņās) mēnesī (dienās)

Z **P(M)ST** – personāla mēnešalga kopā ar sociālo nodokli (latos)

N **MST** – pieskaitāmie izdevumi (ieskaitot komunālos) mēnesī (latos)

S **OBST** – izdevumi par stomatoloģiskās aparatūras iegādi un piegādi (latos)

S **Inst ST** – izdevumi par stomatoloģiskās aparatūras iegādi un piegādi

S **PST** – izdevumi par personāla apmācību (latos)

T **AST** – stomatoloģisko aparatūru (iekārtu) amortizācijas laiks (plānotais) (mēnešos)

C **RST** – vienas procedūras pašizmaksas

D **ST** – cilvēki, kas gaida rindā (jeb kabinetu nefunkcionēšana) (cilv.)

Tabulā dots stomatoloģiskā pakalpojuma vidējās pašizmaksas aprēķins, ja ir dažāds aparatūras noslogojums.

Šai gadījumā aparatūras noslogojums paredz izmantot to, ņemot vērā stomatoloģisko kabinetu (krēslu) skaitu, nodrošinājumu ar patēriņa materiāliem un nodrošinājumu ar personālu. Tas ietekmē izmantotās aparatūras izmaksu un izdevumus par algu un sociālo nodokli. Atsevišķā ailē uzrādīts paredzamais pacientu skaits mēnesī un aparatūras amortizācijas paredzamais termiņš. Rezultātā ir iegūtas viena stomatoloģiskā pakalpojuma dažādas pašizmaksas un iespējamais to pacientu skaits dienā, kas gaida rindā, vai arī iztrūkstāšo pacientu skaits (dīkstāve).

Pēc tabulā norādītajiem datiem, 1. eksperimentā stomatoloģijas pakalpojuma pašizmaksa būs Ls 6,75, ja nebūs rindas un personāls un aparatūra būs pilnībā noslogoti.

2. eksperimentā pacientu plūsma samazinās no 500 līdz 350 cilvēkiem, pašizmaksa praktiski nemainās, tomēr, vienmērīgi sadalot pacientu plūsmu mēneša laikā, aparatūras dīkstāve sasniegs vidēji 6 stundas katru dienu.

3. eksperimentā, samazinot personāla darba laiku no 500 līdz 300 stundām mēnesī (tas ietekmēja algu: tā samazinājās no Ls 1800 līdz 1000 mēnesī), izveidojās 7 cilvēku rinda katru dienu un pašizmaksa paaugstinājās līdz Ls 8,59, lai gan algas samazinājās.

4. eksperimentā, palielinot aparatūras noslogojumu, izdevās samazināt pakalpojuma pašizmaksu līdz Ls 6,13, neveidojot rindu. Tika pagarināts personāla un aparatūras darba laiks, kas savukārt palielināja izdevumus par personāla algu un pieskaitāmos izdevumus.

5. eksperimentā bija tas pats personāla un aparatūras noslogojums, tomēr aparatūras iepirkuma un instalācijas cenas bija zemākas, tādēļ pakalpojuma pašizmaksa samazinājās līdz Ls 5,72.

Tādējādi modeļa MEDCENA ietvaros veiktie eksperimenti, kam bija nepieciešamas dažas minūtes datu apstrādei, deva iespēju izskaitļot dažādas vērtības aparatūras vairākus iespējamus izmantošanas variantus, ja ir dažāds gaidāmo pacientu skaits.

Iegūtie pakalpojumu pašizmaksas dati dod iespēju izstrādāt ekonomiski pamatotas cenas medicīnas pakalpojumiem (konkrēti, stomatoloģijā), iegādāties aparatūru par atbilstošām cenām, noregulēt personāla algas un iekļaut cenā peļņu papildus pašizmaksai, ņemot vērā konkurējošo organizāciju piedāvātās cenas.

Ar modeli MEDCENA var veikt nepieciešamos pētījumus, lai prognozētu dažādus iespējamus (optimistiskus, pesimistiskus, vidējus) procesa rezultātu variantus.

LITERATŪRA

1. *Health Care Technology Assessment Programs: a Review of Selected Programs in Different Countries*. Stockholm, Swedish Council of Technology Assessment in Health Care, 1993, pp. 29–34.
2. Fuchs V. R. *The Health Economy*. Cambridge (MA): Harvard University Press, 1986.
3. *Technology Assessment and Management*. The Same Book: pp. 470–486.
4. Weintraub W. S. *Why Physicians Should Read Reports of an Economic Analysis*. Evidence-Based Cardiovascular Medicine, 2000, Vol. 4, No 3, pp.1–4.
5. Borna S., Sundaram S. *An Approach to Allocating Limited Health Resources*. J. Health Soc. Policy 1999, 11, pp. 85–94.
6. Салтман Р. Б., Фигейрас Дж. *Реформы системы здравоохранения Европы*. Анализ современных стратегий ВОЗ, М., 2000, 428 с.
7. Genduso L., Kotsanos J. *Review of Health Economic Guidelines in the Form of Regulations, Principles, Policies, and Positions*. Drug Information J. 1996, 30, pp. 1003–1016.
8. Mark D. B., Simons T. A. *Fundamentals of Economic Analysis*. Am. Heart J., 1999, 137, pp. 38–40.
9. Drummond M. F., et al. *Methods for the Economic Evaluation of Health Care Programmes*. Oxford, England: Oxford University Press, 1987.
10. Гандз А. С. *Технология планирования и управления медицинским обеспечением населения при катастрофах*. Рига, 1992, 109 с.
11. Гандз А. С. *Материалы Межд. экологического симпозиума*. Тезисы докл., С-Петербург, 2000, т. 2, с. 335–337.
12. Gandzs A. *Veselības aprūpes iestāžu resursu izmantošanas optimizācija*. Rīga, Latvijas Ārstu žurnāls, 2003., Nr. 2, 51.–53. lpp.
13. Gandz A. *Optimization of Resources Utilization in Medical Care Establishments Based on Economical and Mathematical Modelling*. Vilnius. Medicinos teorija ir praktika, 2004., No. 1, pp. 51–53.

Summary

Increasing prices of medical services is one of the most important social problems both in developed and developing countries. Artificial fixing of these prices may lead and even leads to the degradation of Health Care. That is why scientifically argued calculations of prime costs of medical services and working out technological means for practical calculations of prime cost become extremely relevant.

To achieve the above mentioned goal we have created a model named MEDCENA that is shaped as a complex of programs. This model provides a possibility to calculate the prime cost of medical services, including the application of modern technologies that considers multiform influence on the price. The model MEDCENA is approved in practice and may be applied as a tool for any management level of Health Care.

Prognostisko faktoru – steroīdo hormonu receptoru, HER-2, audzēja morfoloģiskās malignitātes pakāpes – biežums un korelācija pacientēm ar krūts vēzi

Alinta Hegmane¹, Uldis Vikmanis², Māris Sperga³

¹ Rīgas Austrumu slimnīca
Hipokrāta iela 4, Rīga, LV-1079
E-pasts: alinta@btv.lv

² Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: uldis.vikmanis@lu.lv

³ Patoloģijas centrs
Hipokrāta iela 2, Rīga, LV-1038
E-pasts: maris.sperga@yahoo.com

Mērķis. Pētījuma mērķis bija noteikt dažādu prognostisko faktoru steroīdo hormonu receptoru (ER, PR), HER-2, audzēja morfoloģiskās malignitātes pakāpes biežumu un korelāciju pacientēm ar krūts vēzi Latvijā.

Pacienti un metodes. ER, PR, HER-2 tika noteikti imūnhistoķīmiski 236 pacientēm, kuām bija morfoloģiski verificēts krūts vēzis un kuras ārstējās Latvijas Onkoloģijas centrā. Audzējs tika uzskatīts par hormonāli jutīgu (ER/PR pozitīvu), ja šūnu kodolu reakcija bija vienāda vai pārsniedza 10%. HER-2 rezultāts tika uzskatīts par pozitīvu, ja ekspresija bija 3+. Audzēja morfoloģiskā malignitātes pakāpe tika noteikta, izmantojot Pasaules Veselības organizācijas ieteikto graduācijas shēmu.

Rezultāti. HER-2 pārekspressija (3+) tika konstatēta 63 pacientēm (27%). Netika konstatēta statistiski ticama korelācija starp steroīdo hormonu receptoru atradi un HER-2 pozitivitāti vai negativitāti ($p=0.079$).

Pastāv statistiski ticama korelācija ($p=0.042$) starp audzēja morfoloģisko malignitātes pakāpi un HER-2 ekspresiju.

Diskusija. Mūsu iegūtie rezultāti sakrīt ar literatūras datiem. Šajā novērojumā apkopoti darba pirmie rezultāti. Klīnisko datu apkopošana tiek turpināta. Dati tiks izmantoti, lai turpmāk analizētu iepriekšminēto faktoru prediktīvo vērtību, izvēloties adjuvanto terapiju pacientēm ar krūts vēzi.

Atslēgvārdi: krūts vēzis, HER-2, steroīdo hormonu receptori, prognostiskie faktori.

Ievads

Krūts vēzis ir biežākais ļaundabīgais audzējs sievietēm gan Latvijā, gan visā pasaulē.

Pēdējo gadu laikā līdz ar zinātnes attīstību un jaunu tehnoloģiju ieviešanu līdztekus klīniski morfoloģiskiem prognostiskiem faktoriem – paduses pozitīvo limfmezglu

skaits, audzēja izmēri, audzēja morfoloģiskās malignitātes pakāpe, pacientes vecums (*Goldhirsch, 2003*) – aizvien lielāku nozīmi iegūst molekulārie marķieri: gan katrs atsevišķi, gan kombinācijās. Molekulāro marķieru ieviešana aizsāka jaunu ēru krūts vēža terapijas plānošanā.

Līdztekus visplašāk zināmajiem steroīdo hormonu receptoriem, arī cilvēka epidermālā augšanas faktora 2. receptoram (*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 – HER-2, cerbB-2*) ir pierādīta prognostiskā vērtība krūts vēža gadījumā (*Slamon, 1987; Slamon, 1989; Berry, 2000*).

Darba mērķis bija novērtēt vairāku prognostisko faktoru – estrogēna receptoru (ER), progesterona receptoru (PR), HER-2 un audzēja morfoloģiskās malignitātes pakāpes – biežumu un korelāciju pacientēm ar krūts vēzi.

Materiāls un metodes

No 2003. gada maija līdz 2005. gada janvārim ER, PR, HER-2 tika noteikti 236 pacientēm, kurām bija morfoloģiski verificēts krūts vēzis un kuras ārstējās Latvijas Onkoloģijas centrā. Materiāls tika izmeklēts histoloģiski un imūnhistoķīmiski (*immunohistochemistry – IHC*).

ER un PR tika noteikti pēc DAKO LSAB+ metodikas, izmantojot estrogēna antivielas (klons ER-1D5) un progesterona antivielas (klons PR-636). Audzējs tika uzskatīts par hormonāli jutīgu (ER/PR pozitīvu), ja šūnu kodolu reakcija bija vienāda vai pārsniedza 10%. Precīzu robežu noteikt nav iespējams, šie 10% ir izvēlēti empīriski un tiek uzskatīti par pamatotiem, lai definētu audzēja jutīgumu pret hormonterapiju [7].

HER-2 tika noteikts IHC, izmantojot HercepTest™ DAKO. HER-2 tika izvērtēts pēc šūnu membrānas reakcijas (HER-2 proteīna ekspresijas). Rezultāts tika uzskatīts par negatīvu, ja ekspresija ir 0 vai 1+, par pozitīvu, ja ekspresija ir 3+. Rezultāts 2+ atbilst robežvariantam, tas nav viennozīmīgs, tādēļ šajā gadījumā iesaka HER-2 noteikt atkārtoti [3, 5], izmantojot citu metodi, piemēram, fluorescences *in situ* hibridizāciju (FISH), kas nosaka HER-2 gēna amplifikāciju. Latvijā šī metode nav pieejama.

Audzēja morfoloģiskā malignitātes pakāpe (Grade) tika noteikta, izmantojot Pasaules Veselības organizācijas ieteikto graduācijas shēmu [6]. Morfoloģiskā malignitātes pakāpe var būt augsta (Grade1), vidēja (Grade2) un zema (Grade3).

Datu statistiskai analīzei tika izmantota vienfaktora nelineārās loģistiskās regresijas metode (binomiālais sadalījums) un vienfaktora dispersijas analīze ar ordinālo multinomiālo sadalījumu.

Rezultāti

Atsevišķi tika analizēti dati par HER-2, steroīdo hormonu receptoru atradi un audzēja morfoloģisko malignitātes pakāpi, kā arī to savstarpējo sakarību.

HER-2 pozitivitāte 3+ tika konstatēta 63 pacientēm (27%) no 236, HER-2 negatīvs (0/1+) bija 109 pacientēm (46%), rezultāts nebija novērtējams (2+) 64 pacientēm (27%).

Steroīdo hormonu receptoru biežums un sadalījums, kā arī to saistība ar HER-2 atradi parādīta 1.tabulā. Korelācija starp HER-2 un stereoīdo hormonu receptoriem – 2. tabulā. HER-2 ekspresijai ir tendence ietekmēt stereoīdo hormonu receptoru atradi ($p=0.079$).

1. tabula

Korelācija starp stereoīdo hormonu receptoru atradi un biežumu un HER-2

Dati tabulā izteikti absolūtos skaitļos (procentos)

	HER – (0/1+) N=109 (%)	HER-2 2+ N=64 (%)	HER+ (3+) N=63(%)
ER+/PR+	52(48%)	37(58%)	30(48%)
ER+/PR-	17(16%)	13(20%)	9(14%)
ER-/PR+	6(5%)	2(3%)	1(2%)
ER-/PR-	34(31%)	12(19%)	23(36%)

ER – estrogēna receptori; PR – progesterona receptori; + pozitīvi; - negatīvi

2. tabula

Korelācija starp HER-2 un stereoīdo hormonu receptoriem (HR)

Dati tabulā izteikti absolūtos skaitļos (procentos)

	HER – (0/1+) N=109 (%)	HER-2 2+ N=64 (%)	HER+ (3+) N=63(%)
HR +	75(69%)	52(81%)	40(64%)
HR -	34(31%)	12(19%)	23(36%)

Nav statistiski ticamas atšķirības starp ER/PR atradi pacientēm ar HER+ un HER- audzējiem ($p=0,475$), tomēr atšķiras rezultāti robežvarianta (2+) grupā, kurā ir lielāks ER/PR pozitīvo gadījumu skaits (HER-2 0/1+ vs HER-2 2+ $p=0,076$; HER-2 2+ vs HER-2 3+ $p=0,027$). Nepieciešama šīs grupas atkārtota pārbaude, izmantojot FISH metodi, lai diferencētu faktisko HER+ gadījumu skaitu šajā grupā. Atkārtota datu analīze pēc tam varētu izmainīt rezultātus pirmajās divās grupās.

Korelācija starp HER-2 un audzēja morfoloģisko malignitātes pakāpi parādīta 3. tabulā. Pastāv tendence, ka HER ekspresija ietekmē audzēja morfoloģisko malignitātes pakāpi ($p=0,057$). Statistiski ticama korelācija ($p=0,042$) konstatēta starp zemāku audzēja morfoloģisko malignitātes pakāpi un HER-2 pozitivitāti.

3. tabula

Korelācija starp HER-2 un audzēja morfoloģisko malignitātes pakāpi (Grade)

Dati tabulā izteikti absolūtos skaitļos (procentos)

	HER – (0/1+) N=109 (%)	HER-2 2+ N=64 (%)	HER+ (3+) N=63(%)
Grade 1	23(21%)	11(17%)	2(3%)
Grade 2	41(38%)	16(25%)	19(31%)
Grade 3	45(41%)	37(58%)	42(66%)

Diskusija

Mūsu iegūtie rezultāti sakrīt ar literatūras datiem [15, 16] par HER-2 ekspresijas biežumu pacientēm ar krūts vēzi.

Nav būtiskas atšķirības starp ER/PR atradi pacientēm ar HER+ un HER- audzējiem. Arī literatūrā nav atrodamā viennozīmīga informācija. Atsevišķos pētījumos pierādīts, ka HER-2 ekspresija korelē ar zemāku ER/PR atradi [3, 13], kamēr citos šī sakarība nav konstatēta [10, 1].

Pastāv zināma korelācija starp HER+ un zemu audzēja morfoloģisko malignitātes pakāpi, kas sakrīt ar literatūras datiem [8, 12, 3] un izskaidrojama kā HER-2 aktivācijas rezultāts [9].

Pretrunīgi ir viedokļi, kā novērtēt ER/PR pozitivitāti; vai uzskatīt, ka jebkura ER atrade ir pietiekama, lai audzēju klasificētu kā hormonāli jutīgu [11], vai nepieciešama 10% robeža [7].

Šajā novērojumā apkopoti darba pirmie rezultāti, klīnisko datu apkopošana turpinās.

Dati tiks izmantoti, lai turpmāk analizētu iepriekš minēto faktoru prediktīvo vērtību [2, 12, 4, 14, 1], izvēloties adjuvanto terapiju pacientēm ar krūts vēzi.

SECINĀJUMI

Nav statistiski ticamas korelācijas starp steroīdu hormonu receptoru atradi un HER-2 pozitivitāti vai negativitāti.

Pastāv statistiski ticama korelācija starp audzēja morfoloģisko malignitātes pakāpi un HER-2 ekspresiju.

Darbs veikts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu.

PATEICĪBA

Pateicamies Normundam Jurkam par palīdzību datu statistiskajā analizē.

LITERATŪRA

1. Bell R., Verma S., Untch M., et al. *Maximizing Clinical Benefit with Trastuzumab*. Semin Oncol, 2004, 31(5) suppl.10, pp. 35–44.
2. Berry D. A., Muss H. B., Thor A. D., et al. *HER-2/Neu and P53 Expression Versus Tamoxifen Resistance in Estrogen Receptor-Positive, Node-Positive Breast Cancer*. J Clin Oncol, 2000, 18(20), pp. 3471–3479.
3. Bilous M., Dowsett M., Hanna W., et al. *Current Perspectives on HER2 Testing: a Review of National Testing Guidelines*. Mod Pathol, 2003, 16(2), pp.173–182.
4. Di Leo A., Gancberg D., Larsimont D., et al. *HER-2 Amplification and Topoisomerase II Alpha Gene Aberrations as Predictive Markers in Node-Positive Breast Cancer Patients Randomly Treated Either with an Antracycline-Based Therapy or with Cyclophosphamide, Methotrexate, and 5-Fluorouracil*. Clin Cancer Res, 2002, 8, pp. 1107–1116.
5. Ellis O., Bartlett J., Dowsett M., et al. *Updated Recommendations for Her2 Testing in the Uk*. J Clin Pathol, 2004, 57, pp. 233–237.

6. Elston C. W., Ellis I. O. *Pathological Prognostic Factors in Breast Cancer. I. the Value of Histological Grade in Breast Cancer: Experience from a Large Study with Long-Term Follow Up*. *Histopathology*, 1991, 19, pp. 403–410.
7. Goldhirsch A., Wood W. C., Gelber R. D., et al. *Meeting Highlights: Updated International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer*. *J Clin Oncol*, 2003, 21(17), pp. 3357–3365.
8. Hayes D. F., Thor A. D. *Cerbb-2 in Breast Cancer: Development of a Clinically Useful Marker*. *Semin Oncol*, 2002, 29, pp. 231–245.
9. Janmaat M. L., Giaccone G. *Small-Molecule Epidermal Growth Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors*. *Oncologist*, 2003, 8 (6), pp. 576–586.
10. Lipton A., Ali S. M., Leitzel K., et al. *Elevated HER-2/Neu Levels Predicts Decreased Response to Hormone Therapy in Metastatic Breast Cancer*. *J Clin Oncol*, 2002, 29(6), pp. 1467–1472.
11. Nadji M., Gomez-Fernandez C., Ganjei-Azar P., Morales A. R. *Immunohistochemistry of Estrogen and Progesterone Receptors Reconsidered: Experience with 5,993 Breast Cancers*. *Am J Clin Pathol*, 2005, 123(1), pp. 21–27.
12. Piccart M., Lohrisch C., Di Leo A., et al. *The Predictive Value of Her2 in Breast Cancer*. *Oncology*, 2001, 61(suppl 2), pp. 73–82.
13. Purkalne G., Svjatoha V., Buiķis I., Leja D., Vikmanis U. *Prognostisko faktoru nozīme primāra krūts vēža ārstēšanā*. *Latvijas Universitātes Raksti. Medicīna*, 2004, 668, 159.–167. lpp.
14. Ross J. S., Fletcher J. A., Linette G. P., et al. *The HER-2/Neu Gene and Protein in Breast Cancer 2003: Biomarker and Target of Therapy*. *The Oncologist*, 2003, 8, pp. 307–325.
15. Slamon D. J., Clark G. M., Wong S. G., et al. *Human Breast Cancer: Correlation of Relapse and Survival with Amplification of the HER-2/Neu Oncogene*. *Science*, 1987, 235(4785), pp. 177–182.
16. Slamon D. J., Godolphin W., Jones J. A., et al. (1989). *Studies of the HER-2/Neu Proto-Oncogene in Human Breast and Ovarian Cancer*. *Science*, 1989, 244(4905), pp. 707–712.

Summary

Background. The aim of our study was to determine the expression of various prognostic markers (HER-2, steroid hormone receptors(ER, PR), nuclear grade) and correlation between them in breast cancer patients in Latvia.

Patients and methods. We reviewed pathology reports of 236 patients with histologically confirmed diagnosis of breast cancer. ER, PR and HER-2 expression was determined by immunohistochemistry (IHC). 10% cutoff value was used to define ER/PR positivity. HER-2 score 3+ was considered positive. Nuclear grade was determined using WHO scoring system.

Results. 63 patients (27%) were HER-2 positive.

No correlation was found between ER/PR expression and HER-2 status ($p=0.079$).

There was statistically significant correlation ($p=0.042$) between HER-2 positivity and high nuclear grade (grade 3).

Discussion. Our results are consistent with literature data. Based on these data, analysis is ongoing to determine the predictive value of HER-2 in selection of adjuvant treatment for breast cancer patients.

Malignā hipertermija – vai tā ir problēma arī Latvijā? Is Malignant Hyperthermia a Problem in Latvia too?

Tālis Kauliņš^{1,2}, Arnolds Jezupovs^{1,2}, Aleksejs Miščuks²

¹ Latvijas Universitātes Medicīnas fakultātes Ķirurģijas katedra
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001

² Latvijas Jūras medicīnas centrs
Patversmes iela 23, Rīga, LV-1005
E-pasts: anestezijs@ljmc.lv

Atslēgvārdi: malignā hipertermija, dantrolēns, anestēzijas komplikācijas, ģenētiskas slimības, gaistošie anestēzijas līdzekļi, hipertermija, tahikardija, hiperkarbija.

Ievads

Maligno hipertermiju (MH) pirmo reizi aprakstīja 1960. gadā Denboro (*Denborough*) un Lavela (*Lovell*) Austrālijā [2]. Tomēr jau agrāk literatūrā bija aprakstīti sindromi, kas raksturīgi MH, piemēram, 1929. gadā franču patologs aprakstījis bālumu un hipertermiju saistībā ar operāciju un augstu bērnu mirstību. MH ir iedzimta autosomāli dominanta slimība, kam raksturīgs hipermetabolisks sindroms un muskulatūras rigiditāte pēc saskares ar gaistošām anestēzijas vielām vai ar īsas darbības muskuļu relaksantu sukcinilholīnu. Sākotnēji mirstība ar MH bija aptuveni 70–80%, bet, uzlabojoties pacientu monitorēšanas un ārstēšanas iespējām, tā attīstījās valstīs samazinājusies līdz 10% [2] 80. gados un 2–3% mūsdienās [3]. Diemžēl situācija Latvijā stipri atšķiras no šīs statistikas. Šobrīd zināmi 2 pacienti, kuriem, iespējams, ir bijusi MH. Diskusijās ar kolēģiem esam dzirdējuši par aizdomīgām klīniskām situācijām, kuras varēja būt MH izpausmes. Kolēģi parasti atceras klīnisko situāciju, bet nevar atcerēties pacientu un arī operācijas laiku, tāpēc nevar sameklēt pacientu, kam, iespējams, bijusi MH manifestācija. Tātad pašlaik valstī zināmā letalitāte ar MH ir 100%. Mūsdienās Latvijas anesteziologi ir informēti par slimības izpausmēm un nepieciešamo ārstēšanu, bet pagaidām nav pieejama verifikācija ar laboratoriskām metodēm un adekvāta ārstēšana ar šobrīd vienīgo efektīvo medikamentu dantrolēnu.

Epidemioloģija

Medicīnas literatūrā sastopami stipri atšķirīgi dati par slimības izplatību. Gēnu mutācijas izplatība populācijā ir no 1:5000 līdz 1:15000 [5, 3]. Cits mērījums ir 1:40 000 līdz 1:100 000 anestēziju. Slimības norise ir smagāka jauniem cilvēkiem, bet vecākiem pacientiem un zīdaiņiem simptomi ir mazāk izteikti [6]. Savukārt, runājot par dzīvniekiem, interesanti, ka jaundzimušiem sivēniem halotāna izraisīta MH bija

retāk sastopama nekā četras nedēļas veciem sivēniem. Latvijā ik gadu tiek veiktas 40 000 – 60 000 anestēziju (dažādos avotos dati ir atšķirīgi), tātad Latvijā jābūt vienam MH manifestācijas gadījumam katru otro gadu. Pēc mūsu rīcībā esošām ziņām, tas notiek reizi 10 gados. No sarunām ar kolēģiem var konstatēt, ka MH līdzīgi simptomi sastopami biežāk, tikai tie netiek dokumentēti. Interessants ir Halsala (*Halsall*) pētījums, ka aptuveni 50% no MH aizdomīgiem pacientiem pirms diagnozes uzstādīšanas saņēmuši anestēziju ar trigervielām, bet slimības simptomi nav manifestējušies [7]. Anestezioģi diskutē tikai par letāliem gadījumiem, bet citu specialitāšu ārsti par šo slimību nav informēti vispār. Lielbritānijā katru gadu tiek ziņots par 100–200 jauniem gadījumiem, no kuriem aptuveni 50% nevar izslēgt maligno hipertermiju, un savukārt 40–50% no tiem MH diagnoze tiek apstiprināta [3].

Etioloģija

MH ir skeleta muskulatūras slimība, kas izpaužas ar kalcija jonu homeostāzes traucējumiem muskuļu kontrakcijas laikā pēc saskares ar anestēzijas līdzekļiem. Intracelulārās kalcija jonu koncentrācijas pieaugums noved pie MH klīniskajām izpausmēm. Cēlonis ir mutācija rianodīna (*ryanodine*) gēnā RYR1. Tas ir liels gēns, kas lokalizēts 19. hromosomā, tāpēc iespējamas daudzas gēnu mutācijas. Šobrīd šai gēnā ir identificēts vairāk nekā 60 mutāciju, bet slimības manifestācijas risks saistīts ar 15 mutācijām [8]. Ir atrastas arī iespējami bīstamas mutācijas citos gēnos 1., 3., 7. un 17. hromosomā. Tas varētu izskaidrot klīnisko izpausmju dažādību un liecina par kalcija vielmaiņas sarežģītību šūnās. MH visbiežāk kombinējas ar centrālas dabas temperatūras regulācijas traucējumiem, Djušēna muskuļu distrofiju un citām miopātijām, pēkšņas nāves sindromu bērniem, karstuma dūrienu un maligno neiroleptisko sindromu [9].

Klīniskās izpausmes

Klīniskai aintai raksturīgs hipermetabolisks stāvoklis, kura cēlonis ir pastiprināta Ca^{2+} jonu izviede no sarkoplazmatiskā tīkla muskuļu šūnās un tā reabsorbcijas traucējumi. MH klīniskās izpausmes:

1. Muskulatūras rigiditāte pastāvīgas aktīva un miozīna mijiedarbības rezultātā. Tā var izpausties gan kā Mesetera (*Massetter*) spazms pēc sukcinilholīna ievades, gan kā vispārēja muskulatūras rigiditāte. Apmēram 25% pacientu, kuriem ir bijis Mesetera spazms pēc sukcinilholīna ievades, tiek pierādīta MH iespējāmība. Šī pacientu grupa Latvijā nav atpazīta. Pacientiem metaboliskas stimulācijas un muskulatūras bojājuma dēļ novēro ievērojamu kreatīnkināzes (CK) un mioglobīna pieaugumu asins plazmā. CK maksimālais pieaugums ir pēc 24 stundām un var pārsniegt normu pat 50 reizes. Tāpat novēro arī mioglobīnūriju, kas izpaužas agrāk.
2. Paaugstinātas vielmaiņas stāvoklis, ko izraisa tieša kalcija-kalmodulīna kompleksa stimulējoša darbība uz glikolītiskajiem enzīmiem un pieaugoša vajadzība pēc ATF. Palielināts ATF daudzums nepieciešams, lai uzturētu pastiprināto aktīva un miozīna mijiedarbību un nodrošinātu ar enerģiju dažādos membrānu sūkņus, kas darbojas ar maksimālu jaudu, lai atjaunotu kalcija homeostāzi.
3. Rabdomiolīze, kas rodas pārmērīgas kontrakcijas un membrānas fosfolipīdu bojājuma dēļ. Šo bojājumu izraisa Ca^{2+} aktivētās fosfolipāzes.

Muskuļi veido aptuveni 40% no kopējās ķermeņa masas, tādēļ slimības manifestācija ir dzīvībai bīstama. Siltuma produkcija tik ļoti pārsniedz siltuma atdeves iespējas, ka ķermeņa temperatūra palielinās vairāk nekā par 1°C 10 minūtēs (0,5°C 15 minūtēs). Šādā hipermetabolisma situācijā skābekļa piegāde nav pietiekama. Tas izraisa skābekļa piesātinājuma krišanos arteriālajās asinīs. Muskuļos pastiprināti veidojas CO₂ un pienskābe. Tas rada acidozi. Rabdomiolīzes dēļ asinīs nonāk mioglobīns un kālijs. Hiperkaliēmija var radīt dzīvībai bīstamus traucējumus. Savukārt mioglobīns izraisa nieru kanāliņu bojājumu un akūtu nieru mazspēju. Muskuļu šūnu bojājuma dēļ atbrīvojas audu nekrotiskais faktors, kas kopā ar hipertermiju veicina diseminētas intravazālas koagulācijas attīstību.

Agrīnās klīniskās pazīmes ir šādas [10]:

- Mesetera spazms pēc sukcinilholīna ievades.
- Tahikardija.
- Aritmija.
- CO₂ koncentrācijas pieaugums izelpā.
- Svīšana.
- Hipertermija (daži autori to uzskata par vēlīnu simptomu).
- Metaboliska acidoze.
- Muskulatūras rigiditāte.
- Hipertensija.
- Pleķains ādas apsārtums.
- Skābekļa piesātinājuma samazināšanās.

Vēlīnās komplikācijas ir:

- Muskuļu pietūkums.
- Smadzeņu tūska.
- Sirdsdarbības apstāšanās.
- Nieru mazspēja.

Diferenciāldiagnozē jāizslēdz tireotoksikoze, ļaundabīgais neuroleptiskais sindroms, sepse, feohromocitoma, kofeīna intoksikācija, izelpas vārsta defekts anestēzijas iekārtā.

Ārstēšana

Veiksmīgas ārstēšanas pamatā ir laikus noteikta diagnoze. Aizdomīgos gadījumos rīcībai jābūt acumirkļīgai.

Gaistošo anestēzijas līdzekļu lietošana jāpārtrauc. Jāuzsāk pacienta „hiperventilācija” ar 100% skābekli. Svaigo gāzu plūsmai un pacienta kontūra tipam jābūt tādām, kas veicina anestēzijas vielas izvadīšanu no organisma. Anestēzija jāturpina ar intravenozu ievadāmiem medikamentiem. Jāinformē ķirurgs par bīstamo situāciju, un operācija jābeidz iespējami ātri. Jāizmanto fizikālas atdzesēšanas metodes, t. i., aukstu šķīdumu intravenoza ievade, ledus pūšļi uz lielajām artērijām, dzesējoši palagi. Lietderīga ir arī kuņģa skalošana un klizmas ar ledusūdeni. Jāseko, lai nerastos

perifēra vazokonstrikcija, kas padara neefektīvus iepriekš minētos pasākumus. Ja ir iespējams, smagos gadījumos var izmantot hemodializes vai mākslīgās asinsrites iekārtas temperatūras pazemināšanai.

Agrīni jāuzsāk Dantrolēna infūzija. Dantrolēns ir vienīgais medikaments, kas ierobežo kalcija jonu uzkrāšanos muskuļu šūnās, kavējot Ca^{2+} jonu pārvietošanos no sarkoidoplazmatiskā tīkla uz t-tubulu sistēmu. Pirmā bolus deva ir 2–3 mg kg^{-1} , kuru ievada strauji. Vienā flakonā ir 20 mg dantrolēna un 3 g mannitola. Nepieciešams veikt atkārtotas dantrolēna infūzijas (20 mg pieaugušiem un 1mg/kg bērniem, kuru svars nepārsniedz 20 kg) ik 5–10 minūtes, līdz sāk samazināties tahikardija, temperatūra un EtCO_2 . Parasti deva ir 10 mg kg^{-1} , bet tā var sasniegt 20 mg kg^{-1} . Var būt nepieciešamas atkārtotas dantrolēna devas turpmāko 48 stundu laikā, ja atjaunojas slimības simptomi. Laikus uzsākot ārstēšanu, dantrolēns ir ļoti efektīvs.

Acidozi un hiperkaliēmiju ārstē, ievadot Na bikarbonātu un glikozi ar insulīnu. Diurēzi nodrošina ar aukstu kristaloīdu šķīdumu ievadi un mannitolu, ko ievada kopā ar dantrolēnu. Lai izvairītos no nieru kanāliņu bojājuma ar mioglobīnu, jānodrošina diurēze 2ml $\text{kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Vēlams, lai urīna reakcija būtu sārmaina. Ja urīna izvadē nav pietiekama, ieteicams papildus ievadīt mannitolu. Koagulopātijas un aritmijas ārstē kā parasti, tikai jāizvairās no kalcija kanālu blokatoriem, jo kombinācijā ar dantrolēnu tie var izraisīt nopietnu miokarda depresiju.

1. tabula

Malignās hipertermijas ieteicamā ārstēšanas shēma

1. Pārtraukt sukcinilhohīna un gaistošo anestēzijas līdzekļu lietošanu.
2. Palielināt minūtes ventilāciju, lai samazinātu EtCO_2 .
3. Izsaukt palīdzību.
4. Ievadīt sākotnējo dantrolēna devu 2,5 mg kg^{-1} bolusu veidā pa 20 mg (flakonā ir 20 mg). 10 mg kg^{-1} ir ieteicamā maksimālā deva, bet vajadzības gadījumā to var palielināt atbilstoši klīniskai situācijai (ir dati par maksimālo devu 20 mg kg^{-1}). Dantrolēnu titrē atbilstoši tahikardijai un hiperkarbijai.
5. Uzsākt fizikālos atdzesēšanas pasākumus, ja ir hipertermija (atdzesēti infūzijas šķīdumi, dobumu skalošana ar ledusūdeni, leduspūšļi uz maģistrālajiem asinsvadiem). Ja nepieciešams, lietot agresīvākas metodes (hemofiltrācija, peritoneālā dialīze, MAR). Pārtraukt dzesēšanu, kad temperatūra pazemināta zem 38,5°C.
6. Ja nepieciešams, ārstēt ritma traucējumus. Nelietot kalcija kanālu blokatorus.
7. Veikt asins gāzu, elektrolītu, CK, asins un urīna analīzes, koagulogrammu. Analīzes atkārtot ik 6 līdz 12 stundas. Ārstēt hiperkaliēmiju ar hiperventilāciju, glikozes šķīdumu ar insulīnu.
8. Turpināt lietot dantrolēnu 1mg kg^{-1} ik 4 līdz 8 stundas 24 līdz 48 stundas.
9. Nodrošināt urīna izdali 2 ml $\text{kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ar mannitolu, furosemīda un kristaloīdu šķīdumiem pēc vajadzības.
10. Apsvērt invazīvās monitorēšanas un mākslīgas plaušu ventilācijas nepieciešamību.
11. Novērot pacientu intensīvās terapijas nodaļā vismaz 36 stundas.
12. Informēt MH laboratoriju (šobrīd LARA) par MH gadījumu, lai iekļautu pacientu nacionālajā reģistrā.

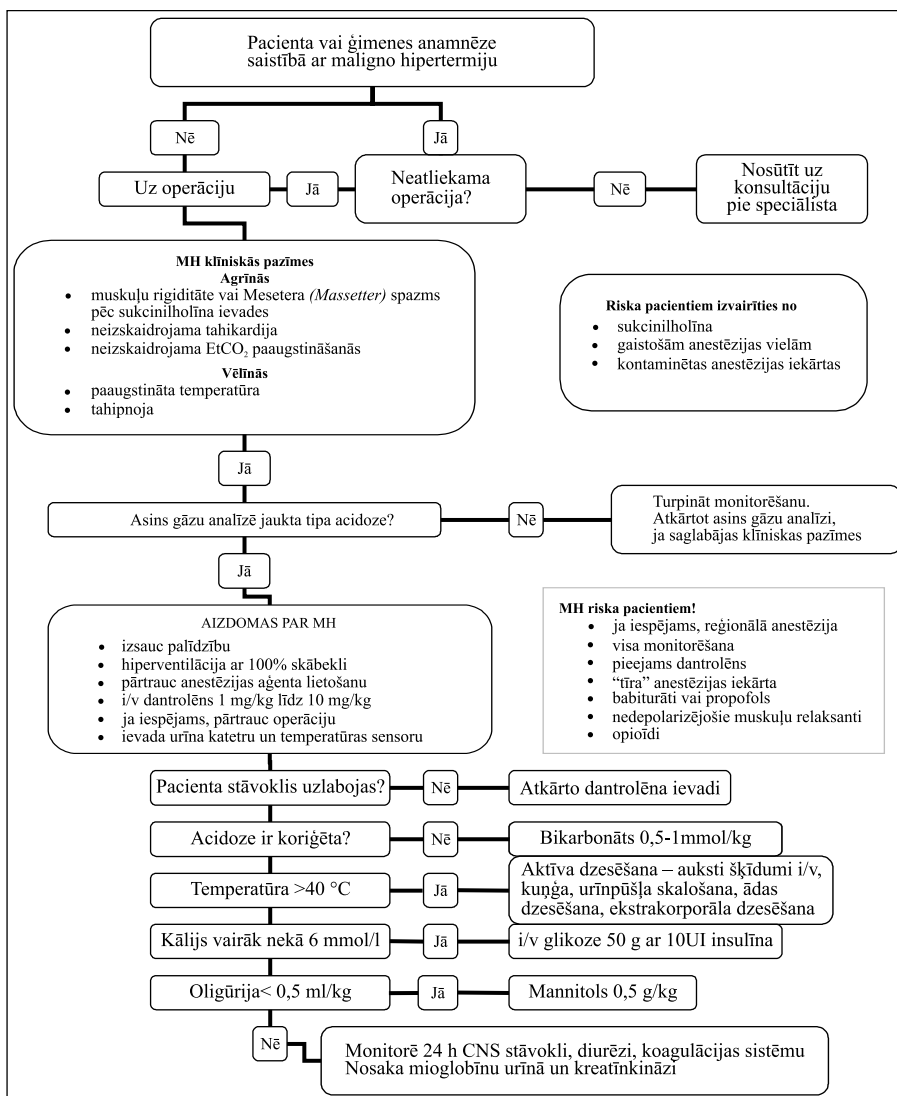
Pēc Benumof J.L., Saidman L.J. *Anesthesia & Perioperative Complications* 2000, pp. 349–53.

Latvijā pacienti, kuriem, iespējams, ir bijusi MH, mira 3 un 4 stundu laikā pēc anestēzijas sākuma. Otrajā gadījumā uzreiz radās aizdomas par MH un tika uzsākta

adekvāta ārstēšana. Diemžēl nevarēja ievadīt dantrolēnu, kas tobrīd un arī pašlaik Latvijas slimnīcās nav pieejams. Dantrolēna rezerves nepieciešamību apliecina arī Polijas pieredze – 2003. gadā Polijā bija 23 MH gadījumi, no kuriem 2 beidzās letāli. Abos gadījumos liktenīgs bija „pāra likums”, jo dantrolēns bija izlietots iepriekšējā pacienta ārstēšanai, bet rezerves vēl nebija atjaunotas.

2. tabula

MH terapijas algoritms



Protams, vislabākā ārstēšana ir profilakse, kas palīdz izvairīties no potenciāli bīstamu medikamentu lietošanas. Vācijā pēc sukcinilholīna lietošanas ierobežošanas MH manifestācija dažos gados samazinājās desmitkārtīgi. Tāpat milzīga nozīme ir

pacientu radnieku izmeklēšanai un diagnozes apstiprināšanai, lai novērstu potenciālo pacientu kontaktu ar gaistošiem anestēzijas līdzekļiem un sukcinilholīnu. Rīcības secība apkopota 1. un 2. tabulā.

Anestēzija pacientiem ar aizdomām uz MH

Malignā hipertermija nav kontrindikācija anestēzijai. Šiem pacientiem nedrīkst lietot trigervielas – gaistošās anestēzijas vielas un sukcinilholīnu. Ja iespējams, jāizvēlas reģionālā anestēzija. Vispārējās anestēzijas gadījumā rūpīgi jāsapatavo anestēzijas iekārta – pirms anestēzijas uzsākšanas jānoņem iztvaikotāji, jānomaina pacienta kontūrs un, izmantojot 100% skābekli, ar maksimālu plūsmu jāveic kontūra ventilācija vismaz 20–30 minūtes. Drošie un bīstamie medikamenti uzskaitīti 3. tabulā [3].

3. tabula

Trigeri un drošie medikamenti MH pacientiem

Trigeri	Drošie medikamenti
Halotāns	Slāpekļa oksiduls
Enflurāns	Visas intravenozās anestētikas
Izoflurāns	Visi benzodiazepīni
Sevoflurāns	Nedepolarizējošie muskuļu relaksanti
Desflurāns	Lokālās anestētikas, arī kombinācijā ar vazokonstriktoriem
Sukcinilholīns	Visas analģētikas, ieskaitot opioīdus
	Neostigmīns
	Atropīns
	Glikopirrolāts
	Metoklopramīds
	Droperidols

Monitorējamie parametri: temperatūra (perifēri un centrāli), EtCO₂, pulsa oksimetrija, jābūt pieejamām asins gāzu un elektrolītu analīzēm. Daži autori iesaka invazīvu asinsspiediena monitorēšanu ar artērijas kanulāciju.

Dantrolēnam un papildus ārstēšanas iespējām jābūt ātri pieejamām. Viena pacienta ārstēšanai vidēji nepieciešami 20 flakoni (400 mg) dantrolēna. Ja visi uzskaitītie pasākumi tiek veikti, anestēzija MH pacientiem nav bīstama. Dantrolēna profilaktiskai lietošanai nav nozīmes, jo nenotiek saskare ar trigervielām, iespējamās tikai medikamenta izraisītās blaknes – nelaba dūša, vemšana, muskuļu vājums un nedepolarizējošo miorelaksantu darbības pagarināšanās.

Diagnozes apstiprināšana

Atbilstoši Eiropas Malignās hipertermijas grupas (EMHG) izstrādātām vadlīnijām [11, 12] joprojām galvenais diagnozes verifikācijas tests ir IVCT (*in vitro contraction test – in vitro* kontrakcijas tests), kurā izmanto *m. vastus* biopsijā iegūtus dzīvus muskuļu audus. Audu paraugu iegūst operācijas laikā, lietojot reģionālo anestēziju, kas ir droša šiem pacientiem. Testa laikā tiek mērīts muskuļu šķiedras kontrakcijas spēks, to muskuļšķiedru kūlīti apskalojot ar halotānu vai kofeīnu saturošu šķīdumu. Salīdzinot ar normāliem probandiem, pacientiem, kam ir aizdomas uz MH, muskuļu šķiedras saraujas ar lielāku spēku, ja halotāna un kofeīna koncentrācija ir zemāka. Ja diagnoze apstiprinās, jāizmeklē visi tiešie radnieki, sākot ar pirmās pakāpes radniekiem. Pēdējos gados tiek izstrādātas arvien jaunas diagnostikas metodes.

Pašlaik atbilstoši EMHG apstiprinātajam protokolam jāveic arī ģenētiskā analīze. Ģenētiskajiem izmeklējumiem kļūstot arvien pieejamākiem, tie jāuzskata par primāro skrīninga metodi, jo pacientam ir mazāk invazīvi un bīstami. Bērniem iesaka izdarīt tikai ģenētisku izmeklēšanu un IVCT veikt tikai pēc 18 gadu vecuma sasniegšanas. Pacientu drošības apsvērumu dēļ rekomendē veikt IVCT arī negatīva DNS izmeklējuma rezultātā, lai izvairītos no viltus negatīva rezultāta. Šobrīd tiek izstrādātas un aprobētas arvien jaunas metodikas, piemēram, rianodīna kontrakcijas tests, kombinēts rianodīna un halotāna/kofeīna tests, kontrakcijas sākuma laika mērījumi un kalcija homeostāzes mērījumi muskuļu šķiedru miotubuļos [8, 13, 14], lai paaugstinātu metodes jutību.

Pateicība

Izsakām pateicību **Eiropas Sociālajam fondam** par atbalstu publikācijas sagatavošanā.

LITERATŪRA

1. Denbrough M. A., Lovell R. R. H. *Anaesthetic Deaths in a Family*. Lancet 1960, 2, p. 45.
2. McCarthy E.J. *Malignant Hyperthermia: Pathophysiology, Clinical Presentat and Treatment*. AACN Clin Issues. 2004 Apr–Jun;15(2), pp. 231–237.
3. Halsall P. J., Hopkins P. M. *Malignant Hyperthermia*. BJ of Anaesthesia, CEPD reviews 2003, Vol. 3, pp. 381–385.
4. Tomiņš P., Mežavilka I., Putniņš V. *Narkozes komplikācija – malignā hipertermija*. Jums, Kolēģi! 2004, 2, 23.–26. lpp.
5. Denbrough M. *Malignant Hyperthermia*. Lancet 1998, pp. 1131–1136.
6. Benumof J. L., Saidman L. J. *Anesthesia & Perioperative Complications 2000*, pp. 349–353.
7. Halsall P. J., Cain P. A., Ellis F. R. *Retrospective Analysis of Anaesthetics Received by Patients Before Susceptibility to Malignant Hyperpyrexia was Recognised*. Br J Anaesth 1979, 51, pp. 949–954.
8. Wehner M., Rueffert H., Koenig F., Olthoff D. *Functional Characterization of Malignant Hyperthermia-Associated Ryr1 Mutations in Exon 44, Using the Hyman Myotubes Model*. Neuromuscul Disord. 2004 Jul, 14(7), pp. 429–437.
9. Wedel D. J. *Malignant Hyperthermia – an Update*. IARS Rewiev Course Lectures 2000, pp. 100–104.
10. *Die Maligne Hyperthermie*. Anaesthesist 1994, 42, pp. 557–562.
11. European MH Group. *A Protocol for the Investigation of Malignant Hyperpyrexia (MH) Susceptibility*. Br. J. Anaesth 1984, 56, pp. 1267–1269.
12. *Ording H. for the European Malignant Hyperthermia Group. In Vitro Contracture Test for the Diagnosis of Malignant Hyperthermia Following the Protocol of the European MH Group: Results of Testing Patients Surviving Fulminant MH and Unrelated Low-Risk Subjects*. Acta Anaesthesiol Scandinavica 1997, 41, pp. 955–966.
13. Weisshorn R., Wappler F., et al. *Ryanodine Contracture Threshold Timesfor Diagnosis of Malignant Hyperthermia Susceptibility: an Experimental Approach From a Single Laboratory*. J. Clin. Anesth. 2004, 16(5), pp. 353–357.
14. Bendahan D., Guis S., et al. *Comparative Analysis of in Vitro Contracture Tests with Ryanodine and a Combination of Ryanodine with Either Halothane or Caffeine: a Comparative Investigation in Malignant Hyperthermia*. Acta Anaesthesiol Scandinavica 2004, 48(8), pp. 1019–1027.

Summary

Malignant hyperthermia (MH) is a pharmacogenetic disorder with an autosomal dominant inheritance. In 1960 it was reported for the first time by Denbrough and Lovell in Australia [1]. MH is a potentially fatal disease triggered by commonly used volatile anaesthetics and/or succinilcholine. There has been significant progress in the clinical management, identification of MH susceptible persons and understanding of the pathophysiology. Current MH mortality is 2–3%, because of worldwide used dantrolene and therapy standards. In Latvia the situation is much worse the mortality rate is 100%, because of the lack of dantrolene treatment possibility. In the absence of diagnostic possibilities for our patients and not enough activities from medical society and the healthcare system, patients are more vulnerable. With this publication we would like to actualise the problem in our society and give information for healthcare professionals.

Ķermeņa saliecējmuskuļu un atliecējmuskuļu analīze basketbolistiem

Gundega Knipše

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: gundega.knipse@lu.lv

Leonīds Čupriks

Latvijas Sporta pedagoģijas akadēmija
Brīvības gatve 333, Rīga, LV-1006
E-pasts: weight@lspa.lanet.lv

Medicīnas literatūrā ir daudz darbu, kur aprakstīts ķermeņa muskuļu spēks un izturība un to izmeklēšanas metodes. Visvairāk ir apskatītas šādas muskuļu izpētes metodes: statistiskie izometriskie pētījumi, dinamiskie pētījumi, kuros izmantotas izokinētiskās un izoinertās sistēmas [4, 6, 7], kustību analīzes sistēmas, izskaitļoti matemātiskie modeļi, elektromiogrāfiskie pētījumi [14], kā arī divu vai vairāku iepriekš minēto metožu kombinācijas [8, 10, 11].

Lielākā daļa šo autoru novērtējuši ķermeņa muskuļu statiskos un dinamiskos parametrus pacientiem ar mugurkaulāja jostas daļas sāpju sindromu [9, 12] vai arī, salīdzinot divu grupu funkcionālos rādītājus, pacientiem ar jostas daļas sāpju sindromu un bez tā [5]. Medicīnas literatūrā nereti norādīts, ka sāpju sindroms muguras jostas daļā ietekmē rumpja muskuļu spēku attīstību [1]. Ir arī pretējs viedoklis – pacientiem ar sāpēm muguras jostas daļā muguras atliecējmuskuļi ir novājināti [13]. Citi savukārt to attiecina uz fleksoriem [8] vai simetrisku fleksoru–ekstensoru spēku pamazinājumu.

Visadekvātākā novērtēšanas metode ir izokinētiskā muskuļu testēšana. Gandrīz visi šie testi tiek izpildīti sagīdītā plaknē sēdus vai stāvus stāvoklī. Daži autori ir secinājuši, ka, izmainot testējamā stāvokļus, iegūtie spēka rādītāji ievērojami mainās [3,10]. Ir daudz pētījumu par rumpja saliecējmuskuļu un atliecējmuskuļu izokinētisko mērījumu atkarojamību. Šie mērījumi tika izpildīti ar vienām un tām pašām izokinētiskajām ierīcēm, lietojot vienus un tos pašus testus, un deva pietiekami objektīvus datus. Tai pašā laikā daļa autoru [6] ir pierādījuši, ka informācija, kas iegūta ar dažādām izokinētiskajām ierīcēm un dažādām metodēm, nav salīdzināma.

Atslēgvārdi: rumpja fleksori-ekstensori, muskuļu testēšana, izokinētiskais režīms, leņķiskie ātrumi.

Key words: flexors, extensors of the trunk, muscle testing, isokinetic regime, angular speeds.

Materiāli un metodes

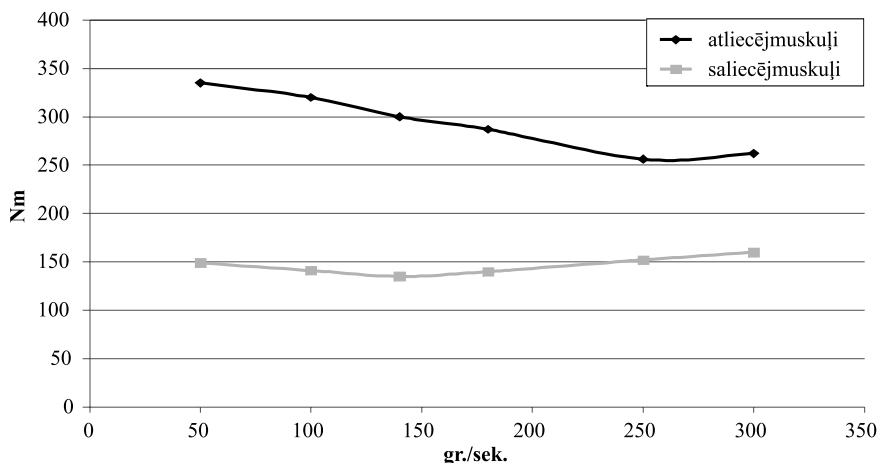
Mūsu pētījuma uzdevums bija izokinētiski novērtēt divas basketbolistu grupas: vienu ar mugurkaulāja jostas daļas sāpju sindromu, otru – bez tā, un salīdzināt iegūtos datus ar citu autoru pētījumiem.

Divas sportistu grupas tika testētas ar izokinētisko ierīci REV 9000. Eksperimentālajā grupā bija 10 vīriešu kārtas sportisti, kuru vidējais vecums 26,5±4,4

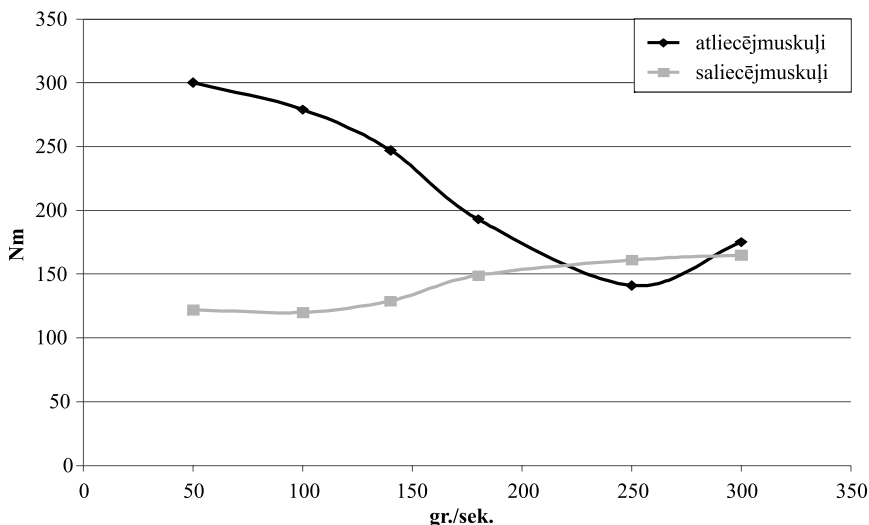
gadi, vidējais augums $184,5 \pm 8,4$ cm un vidējā ķermeņa masa $82,5 \pm 6,4$ kg. Visiem apsekojamajiem pagātnē bija bijušas izteiktas sāpes muguras jostas daļā, bet testēšanas brīdī tās bija asimptomātiskas. Kontroles grupu veidoja 10 basketbolisti, kuru vidējais vecums ir $27,2 \pm 3,4$ gadi, vidējais augums $186,3 \pm 6,4$ cm un vidējā ķermeņa masa $90,3 \pm 7,4$ kg. Šīs grupas sportistiem bija obligāts nosacījums, lai pēdējo divu gadu laikā viņiem nebūtu bijušas sāpes mugurā. Novērtēšanas protokols abām grupām bija identisks: 7 min. – ķermeņa priekšējās un mugurējās daļas muskuļu iestiepums, 10 min. – brīvās kustības, lai iesildītu rumpja fleksorus un ekstensorus, 5 min. – speciālā iesildīšanās uz izokinētiskās iekārtas REV 9000, pēc tam fleksoru–ekstensoru testēšana dažādos leņķiskos ātrumos ($50-100-140-180-250-300^\circ/\text{sek.}$), sākot ar vismazāko un beidzot ar vislielāko ātrumu. Katrā leņķiskajā ātrumā tika izpildīti trīs pilni atkārtējumi, starp kuriem bija 2 min. atjaunošanās periods. Eksperimenta gaitā liela nozīme tika pievērsta ķermeņa stāvoklim izokinētiskajā ierīcē: testējamie izpildīja uzdevumu sēdus stāvoklī, kur rumpis tika fiksēts ar muguras stiprinātāju, ko veidoja divas sakrustotas siksnas. Iegurnis tika fiksēts ar horizontālas siksnas palīdzību gurnu rajonā, lai bloķētu kustības gūžas locītavā. Ierīces rotācijas ass tika orientēta uz 4. un 5. lumbālā skriemeļa rajonu, bet kustību amplitūda noregulēta tā, lai kustības notiktu izolēti tikai jostas rajonā, neskarot iegurni. Statistiskajai analīzei izmantojam maksimālā spēka vidējos rādītājus (izteiktus N·m (ņūtonmetros)), kurus ieguvām trijos piegājienos. Abu grupu rezultātu salīdzināšanai izmantojam studenta t-kritēriju ar 95% ticamības līmeni.

Rezultāti un diskusija

1. un 2. attēlā parādīti kontroles grupas (bez sāpju sindroma) un eksperimentālās grupas (ar sāpju sindromu muguras jostas daļā) spēka rādītāju maksimālie lielumi, 3. attēlā – fleksoru–ekstensoru maksimālā spēka rādītāju attiecības starp abām grupām.

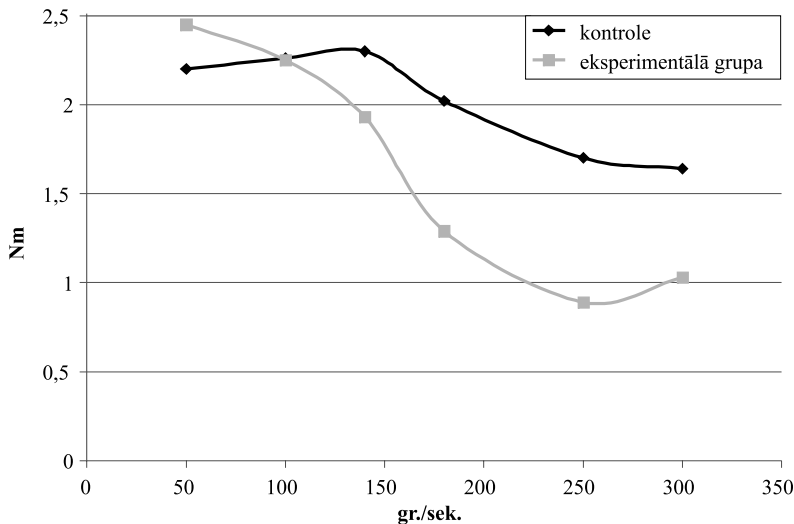


1. att. Muskuļu maksimālais spēks izokinētiskā muguras fleksoru–ekstensoru režīmā kontroles grupai dažādos leņķiskajos ātrumos



2. att. Muskuļu maksimālais spēks izokinētiskā muguras fleksoru–ekstensoru režīmā eksperimentālai grupai dažādos leņķiskajos ātrumos

Salīdzinot testu rezultātus eksperimentālajā un kontroles grupā vienādos leņķiskajos ātrumos, ekstensoru spēka rādītāji bija atšķirīgi visos leņķiskajos ātrumos. Turpretī fleksoru spēka rādītāji ticami atšķīrās tikai leņķiskajā ātrumā 45°/sek.



3. att. Muskuļu maksimālo spēku attiecības kontroles un eksperimentālai grupai izokinētiskā muguras fleksoru–ekstensoru režīmā dažādos leņķiskajos ātrumos.

Sešos testējamajos leņķiskajos ātrumos ekstensoru maksimālā spēka deficīts eksperimenta grupas dalībniekiem, salīdzinot ar kontroles grupu, bija 24,3%, kamēr fleksoru deficīts bija tikai 4,1%. Eksperimentālajai grupai ekstensoru deficīts bija lielāks lielākos leņķiskajos ātrumos nekā mazos ātrumos. Ekstensoru–fleksoru

attiecību normalizācija parādīja, ka, palielinoties ātrumam, samazinās spēka rādītāji abās grupās, turklāt eksperimentālajā grupā šis pamazinājums norit vairāk lineāri, salīdzinot ar kontroles grupu.

Eksperimentālās grupas dalībniekiem attiecības starp ekstensoru–fleksoru spēka rādītājiem divos visātrākajos leņķiskajos ātrumos (250 un 300 %/sek.) bija 1, t. i., fleksoru spēks tika līdzsvarots ar ekstensoru spēku.

Mūsu pētījuma rezultāti apstiprina vairākuma autoru viedokli par ekstensoru deficītu kā sportistiem ar muguras jostas daļas sāpju sindromu, tā arī bez tā. Spēka samazinājums, darbojoties ekstensoriem, bija atkarīgs no leņķiskā ātruma kā eksperimentālās, tā arī kontroles grupas sportistiem – lielākā leņķiskā ātrumā bija lielāks spēka pamazinājums, kas vairāk izpaudās eksperimentālajā grupā.

Secinājumi

Izveidojot rumpja ekstensoru–fleksoru dinamisko raksturojumu sešos leņķiskajos ātrumos, ieguvām šo antagonistu muskuļu attiecības: 1,64 basketbolistiem ar muguras jostas daļas sāpju sindromu un 2,02 basketbolistiem bez sāpju sindroma. Tātad attiecība rumpja ekstensori–fleksori sāpju sindroma gadījumā ir zemāka un, palielinoties leņķiskajiem ātrumiem, vērojama šo rādītāju tuvināšanās.

Basketbolistiem ar muguras jostas daļas sāpju sindromu muguras atliecējmuskuļu deficīts ir ievērojami lielāks nekā sportistiem bez sāpju sindroma; tai pašā laikā rumpja saliecējmuskuļiem spēka deficītu nenovēro.

Ņemot vērā, ka sāpes muguras jostas daļā neietekmē rumpja fleksoru spēka rādītājus, diskutējams ir jautājums par vēdera preses muskuļu nostiprināšanu pacientiem ar muguras jostas daļas sāpju sindromu to rehabilitācijas periodā. Tāpat šis pētījums nedod atbildi uz jautājumu, vai rumpja atliecējmuskuļu deficīts pacientiem ar sāpēm muguras jostas daļā ir sāpju cēlonis vai to sekas.

LITERATŪRA

1. Addison R., Schultz A. (1990) *Trunk Strengths in Patients Seeking Hospitalization for Chronic Low-Back Disorders*. Spine, 5:539–544.
2. Altson W., Carlson K., Feldman D. J., Grim Z., Gerontinos E. (1997) *Quantitative Study of Muscle Factors in the Chronic Low-Back Syndromes*. Clinical Orthoph., 129:84–95.
3. Biering-Sorensen P. (1884) *Physical Measurements as Risk Indicators for Low Back Trouble Over a One Year Period*. Spine, 10:106–119.
4. Gomez T., Beach G., Cooke C., Hrudehy W., Goyert P. (1991) *Normative Data Base for Trunk Range of Motion, Strength, Velocity and Endurance with the Isostation B-200 Lumbar Dynamometer*. Spine, 16:15–21.
5. Holmstrom E., Moritz U., Andersson M. (1992) *Trunk Muscle Strength and Back Muscle Endurance in Construction Workers With and Without Low Back Disorders*. Scand. J. Rehabil. Med., 24:3–10.
6. Hupli M., Sainio P., Hurri H., Alaranta H. (1997) *Comparison of Trunk Strength Measurement Between Two Different Isokinetic Devices Used at Clinical Settings*. Journal of Spinal Disorder. Vol. 10, 391–397.

7. Kerner M. S., Kurrant A. B. (1990) *Relative Isoinertial Performance Expressions for the Isostation B-200*. The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy, 12:60–5.
8. Klusk D. J. (1990) *A Study of the Strength Ratio of the Back Extensors to the Trunk Flexors*. Masters Thesis, University of Iowa, 5:143–148.
9. Kohles S., Barnes D., Gatchel R. J., Mayer T. G. (1990) *Improved Physical Performance Outcomes After Functional Restoration Treatment in Patients with Chronic Low-Back Pain*. Early Versus Recent Training Results. Spine, 15:1321–4.
10. Kumar S., Dufresne R. M., Van Schoor T. (1995) *Human Trunk Strength Profile in Flexion and Extension*. Spine, Vol. 20, No 2, 160–168.
11. Malchaire J. B., Masset D. F. (1995) *Isometric and Dynamic Performances of the Trunk and Associated Factors*. Spine, Vol. 20, No 15, 1649–1656.
12. Masset D., Malchaire J., Lemoine M. (1993) *Static and Dynamic Characteristics of the Trunk and History of Low Back Pain*. International Journal of Industrial Ergonomics, 11:279–90.
13. Mayer T., Smith S., Keeley J., Mooney V. (1985) *Quantification of Lumbar Function Part 2: Sagittal Plane Trunk Strength in Chronic Low Back Pain Patients*. Spine, 10:765–772.
14. Sward L., Swensson M., Zettemberg C. (1990) *Isometric, Muscle Strength and Quantitative Electromyography of Back Muscles in Wrestlers and Tennis Players*. The American Journal of Sports Medicine, Vol. 18, No 4, 78–80.

Summary

The task of the research was to evaluate isokinetically and compare two basketball player groups: one having low back pain syndrome, another – without it, and to compare the obtained data to the ones of the literature. The athletes were tested on the isokinetic device REV 9000, stating their trunk extensor-flexor strength parameters at different angular speed.

Having made the trunk extensor-flexor dynamic characterization at six angular speeds, we got the relations of these muscles - antagonists: 1.64 basketball players with low back pain syndrome and 2.02 basketball players without the pain syndrome; thus the relation of trunk extensors-flexors in the case of the pain syndrome is lower, and when the angular speeds increase, these parameters become closer.

Basketball players with spine low back pain syndrome have a significantly greater deficit of back extensor muscles in comparison to the players without the syndrome; at the same time the trunk flexors do not have the strength deficit.

Taking into account the fact that the pain in the spine low back pain syndrome does not influence the strength parameters of trunk flexors, it is a disputable question concerning the strengthening of the abdominal muscles of the patients having spine low back pain syndrome in the rehabilitation period. This research does not also give the answer to the question whether the trunk extensor deficit is the cause or consequence of this pain.

Perioperatīvā mirstība un komplikācijas pēc plaušu audzēju operācijām

Uldis Kopeika^{1,2}, Immanuels Taivāns¹, Ainis Pirtnieks²,
Aija Lange², Genādijs Ambalovs², Jāzeps Baško²

¹ Latvijas Universitātes Medicīnas Fakultāte
Šarlotes iela 1^a, Rīga, Latvija, LV-1001

² Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca,
Torakālās ķirurģijas centrs
Pilsõņu iela 13, Rīga, LV-1002
E-pasts: kopeika@stradini.lv

Darba mērķis bija noteikt pēcoperāciju komplikāciju un mirstības biežumu, konstatēt iespējamus riska faktoros.

Materiāls un metodes. Mēs analizējām visu to pacientu ($n=453$) datus, kuriem pēdējo 5 gadu laikā tika veikta plaušu audzēju operācija.

Rezultāti. 30 dienu pēcoperācijas mirstība bija 3,3%, komplikācijas novērojām 37,7% pacientu. Kā letalitātes riska faktors tika konstatēti: FEV1<60% no normas, pneimonektomija, kā arī tumora III stadija.

Secinājumi. Mūsu klīniskās dati par pēcoperācijas mirstību neatšķiras no pasaules datiem. Atšķirībā no citiem autoriem, netika atrasta statistiski ticama sakarība starp zemu paredzamo pēcoperācijas ventilācijas funkciju un lielāku operācijas risku.

Atslēgvārdi: plaušu vēzis, plaušu operācijas, mirstība, komplikācijas, riska faktori.

Key words: Lung cancer, lung surgery, letality, complications, risk factors.

Ievads. Plaušu vēzis ir biežākā onkoloģiskā saslimšana rietumu pasaulē [1], kā arī biežākais nāves cēlonis onkoloģisko slimību vidū. Lai gan ārstēšanas metodes ir progresējušas, tomēr plaušu vēža pacientu dzīvildzes prognoze aizvien ir ļoti slikta. Šie audzēji slikti padodas staru terapijai un ķīmijterapijai, un labākā ārstēšanas metode ir radikāla ķirurģiska operācija. Diemžēl procesa plašuma un blakusslimību dēļ gan Latvijā, gan citur pasaulē radikāli operēt iespējams tikai 10–20% pacientu [1–3]. Uzlabojoties anestezioloģijas un intensīvās terapijas metodēm un tehnoloģijām, iespējams izoperēt aizvien smagāk slimus pacientus ar pieņemami zemu perioperatīvo mirstību un komplikāciju biežumu. Tomēr, pieaugot iedzīvotāju dzīvildzei, proporcionāli pieaug tādu gados vecu pacientu skaits, kam ir daudz blakusslimību [4–6]. Lai uzlabotu operatīvās ārstēšanas kvalitāti un identificētu augsta riska pacientus, ir jāzina pēcoperācijas komplikāciju un mirstības biežums un to riska faktori.

Tas ļautu salīdzināt operāciju, kas ir ar augstu risku, bet labākiem attālajiem ārstēšanas rezultātiem, ar konservatīvu terapiju, kam ir mazāks komplikāciju risks, bet arī sliktāki rezultāti. Riska faktoru novērtēšana ļautu ārstam un pacientam katrā gadījumā izvēlēties labāko ārstēšanas metodi.

Darba uzdevumi bija noteikt pēcoperācijas mirstības un komplikāciju biežumu, to riska faktorus mūsu klīnikā, kā arī salīdzināt mūsu rezultātus ar citu autoru datiem.

Materiāls un metodes

Pacientu atlase

Pētījumā iekļāvām visus pacientus, kuriem mūsu klīnikā tika veikta lobektomija, bilobektomija vai pneimonektomija sakarā ar pirmreizēju ļaundabīgu plaušas jaunveidojumu. Pētījumu akceptējusi Paula Stradiņa KUS Kardioloģijas institūta Ētikas komisija. Analizējām pēdējo piecu gadu datus laika posmā no 2000. gada 1. janvāra līdz 2004. gada 31. decembrim. Kopā tika analizēti 453 pacientu dati. No šiem pacientiem 396 bija vīrieši un 57 sievietes. Vidējais pacientu vecums bija 61±8,7 gadi. Tika veiktas 74 labās puses pneimonektomijas un 102 kreisās puses pneimonektomijas. Labajā pusē tika veiktas 18 apakšējās bilobektomijas, 2 augšējās bilobektomijas, 49 apakšējās lobektomijas, 69 augšējās lobektomijas un 14 vidusdaivas rezekcijas; kreisajā pusē tika veiktas 56 apakšējās lobektomijas un 69 augšējās lobektomijas. Pirms operācijas pacientus izmeklējām pēc vienotas shēmas. Viņiem tika veikta krūškurvja rentgenogrāfija, datortomogrāfija, plaušu ventilācijas funkcijas ar bronhodilatāciju, kā arī elektrokardiogramma 12 standartnovadījumos, fibrobronhoskopija un vēdera dobuma orgānu ultrasonoskopija.

Visiem pacientiem pirms paredzētās operācijas, ņemot vērā fibrobronhoskopijas datus par obturēto segmentu skaitu, tika aprēķināta plānotās pēcoperācijas funkcija, izmantojot BTS vadlīnijās [7] rekomendēto formulu:

$$\text{ppoFEV1} = \text{poFEV1} * ((19 - a) - b) / 19 - a,$$

kur a – obturēto segmentu skaits rezecējamajā plaušas daļā, b – neobturēto segmentu skaits rezecējamajā plaušas daļā. Pētījumā fiksētie un analizētie objektīvās izmeklēšanas parametri atspoguļoti 1. tabulā. Tajā doti anamnēzes un objektīvās izmeklēšanas dati, kuri analizēti kā iespējama pēcoperāciju komplikāciju mirstības riska faktors.

Operācijas un narkozes norise

Pirms operācijas visiem pacientiem tika veikta perioperatīva antibakteriāla profilakse ar *S.Cefasolini* 2,0 g intravenozi. Operācijas pacientiem izdarīja nodaļas torakālo ķirurgu brigāde, kā standartu izmantojot sānu guļu, laterālo torakotomiju un dalīto endobronhiālo intubāciju. Operācijas laikā visiem pacientiem veicām sistemātisku videnes limfmezglu ekstirpāciju. Pēcoperācijas periodā pacientiem atsāpināšanai izmantojām opiātu ievadi, devu izvēlējāmies “pēc pieprasījuma (*on demand*)”. Visiem pacientiem veica pēcoperāciju masāžu un ārstniecisko fizikultūru palātā. Viņi saņēma arī pēcoperācijas trombemboliju profilaksi ar kādu no mazmolekulārajiem heparīniem (*Clexani, Fragmini*).

Datu vākšana

Reģistrējām prospektīvos datus, fiksējot pirmsoperācijas izmeklēšanas informāciju, operācijas gaitu un iznākumu. Par pēcoperāciju komplikācijām uzskatījām tās, kas konstatētas 30 dienu laikā pēc operācijas vai arī stacionēšanas laikā, ja pacients atradās stacionārā ilgāk par 30 pēcoperācijas dienām. Reģistrējām tikai tās komplikācijas,

kuru dēļ bija nepieciešama medikamentoza vai ķirurģiska iejaukšanās vai kuras būtiski pasliktināja pacienta dzīves kvalitāti. Datus analizējām ar *Microsoft Excel 2000* programmu, izmantojot pievienojumprogrammu PHStat2, kā arī *Statistica 6* specializēto datu apstrādes programmu. Lietojām t-testu, lai izvērtētu, vai divu grupu vidējās vērtības ir statistiski ticami vienādas; z-testu, lai izvērtētu, vai ir vienāda proporcija divās grupās; un *Chi-square* testu, lai izvērtētu proporcijas starp vairākām grupām. Testu ticamības pakāpe – 0,05.

1. tabula

Anamnēzes dati, mirstības un komplikāciju biežums

Iespējamais riska faktors	Pacientu skaits ar šo faktoru		Mirstība šo pacientu grupā			Komplikācijas šo pacientu grupā		
	Skaits	%	Skaits	%	p	Skaits	%	p
Vīriešu dzimums	396	87,4	13	3,3	-	158	39,9	0,01
Operācijas ilgums>180 min	112	24,7	7	6,3	-	51	45,5	0,05
Vecums>70 g.	53	11,7	3	5,7	-	26	49,1	0,07
Nesmēķē	133	29,4	4	3,0	-	44	33,1	-
Smēķē	320	70,6	3	0,9	-	127	39,7	-
ĶMI >30	35	7,7	1	2,9	-	13	37,1	-
FEV1 <80%	141	31,1	9	6,4	-	68	48,2	-
FEV1 <60%	32	7,1	5	15,6	0,01	18	56,3	0,02
ppoFEV1<60%	194	42,8	10	5,2	-	101	52,1	0,01
ppoFEV1<40%	43	9,5	3	7,0	-	19	44,2	-
Kardiāla anamnēze	214	47,2	10	4,7	-	92	43,0	0,03
Hipertensija	68	15,0	1	1,5	-	31	45,6	-
Stenokardija	106	23,4	4	3,8	-	43	40,6	-
Ritma traucējumi	77	17,0	4	5,2	-	35	45,5	-
Miokarda infarkts anamnēzē	41	9,1	3	7,3	-	21	51,2	-
Hroniska sirds mazspēja	73	16,1	4	5,5	-	34	46,6	-
Čūlas anamnēze	77	17,0	3	3,9	-	27	35,1	-
Obliterējoša ateroskleroze	33	7,3	1	3,0	-	17	51,5	-
Aknu funkciju traucējumi	27	6,0	2	7,4	-	10	37,0	-
Neiroloģiska simptomātika	47	10,4	0	0,0	-	21	44,7	-
Saistaudu slimības	6	1,3	0	0,0	-	3	50,0	-
Diabēts	23	5,1	0	0,0	-	10	43,5	-
US pārmaiņas nierēs	38	8,4	3	7,9	-	15	39,5	-
Cits onkoloģisks process	15	3,3	1	6,7	-	7	46,7	-
Tumora stadija I	163	36,0	1	0,6	-	55	33,7	-
Tumora stadija II	95	21,0	3	3,2	-	36	37,9	-
Tumora stadija III	154	34,0	10	6,5	0,01	69	44,8	0,03
Tumora stadija IV	14	3,1	1	7,1	-	5	35,7	-
Lobektomija	257	56,7	5	1,9	-	77	30,0	-
Bilobektomija	20	4,4	0	0,0	-	9	45,0	-
Pneimonektomija	176	38,9	10	5,7	0,02	85	48,3	0,01
Adeno Ca histoloģiski	107	23,6	5	4,7	-	38	35,5	-
Plakanšūnu Ca histoloģiski	282	62,3	10	3,5	-	104	36,9	-
Plazmas transfūzija	137	30,2	9	6,6	0,01	45	32,8	-
Er masas transfūzija	46	10,2	5	10,9	0,01	19	41,3	-
Visi pacienti kopā	453	100,0	15	3,3		171	37,7	

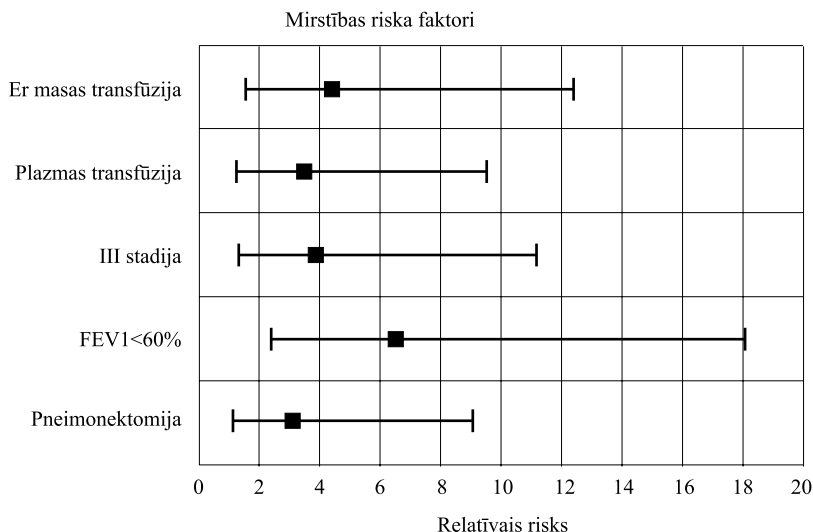
Rezultāti

Audzēju stadija, histoloģiskā uzbūve, nepieciešamība operācijas laikā veikt plazmas vai eritrocītu masas transfūziju parādīta 1. tabulā.

Mirstība

Kopējā mirstība pēc operācijām bija 3,3% (15 pacienti). Mirstības saistība ar iespējamajiem pirmsoperācijas objektīvās izmeklēšanas datiem redzama 1. tabulā.

Tajā parādīts mirušo pacientu skaits, kā arī sadalījums pa rindām atkarībā no iespējamā riska faktora. Ja faktors konstatēts kā statistiski ticams, uzrādīta p vērtība, ja nav statistiski ticams – ievilkta (-) zīme. Statistiski ticamiem mirstības riska faktoriem tika aprēķināts relatīvais risks (RR) un 95% ticamības intervāls (TI). Kā statistiski ticami paaugstinātas pēcoperācijas letalitātes riska faktori tika konstatēti: FEV1<60%, RR 6,58; III tumora stadija RR 3,88; pneimonektomija, RR 3,15; arī nepieciešamība veikt eritrocītu masas vai svaigi saldētas plazmas transfūziju operācijas laikā. Iegūtie dati – relatīvais risks un 95% ticamības intervāls – ir atspoguļoti 1. grafikā.



1. grafiks. Mirstības riska faktori

Komplikācijas

Komplikāciju biežums pēc operācijām bija 37,7 %. Biežākās komplikācijas: sirdsdarbības ritma traucējumi, brūces vai atlikušās plaušas daļas infekcija. Precīzs komplikāciju uzskaitījums ir 2. tabulā. Komplikāciju saistība ar pirmsoperācijas izmeklēšanas datiem redzama 1. tabulā. Tajā parādīts pacientu skaits ar komplikācijām, kā arī sadalījums pa rindām atkarībā no iespējamā riska faktora. Ja faktors konstatēts kā statistiski ticams, uzrādīta p vērtība, ja nav statistiski ticams – ievilkta (-) zīme. Statistiski ticamiem paaugstināta komplikāciju biežuma riska faktoriem tika aprēķināts relatīvais risks un 95% ticamības intervāls. Kā statistiski ticami paaugstināta pēcoperāciju komplikāciju riska faktori tika konstatēti: FEV1<60%, RR 1,55; ppoFEV1<60%, RR 1,93; III tumora stadija, RR 1,33; pneimonektomija, RR 1,56;

vīriešu dzimums, RR 1,75; kardiālu slimību anamnēze, RR 1,3; operācija, garāka par 180 minūtēm, RR 1,29. Paaugstināts pacientu vecums uzrādīja tikai ticamības tendenci ($p=0,07$) būt par pēcoperāciju riska faktoru, RR 1,35. Iegūtie dati – relatīvais risks un 95% ticamības intervāls – ir atspoguļoti 2. grafikā.

2. tabula

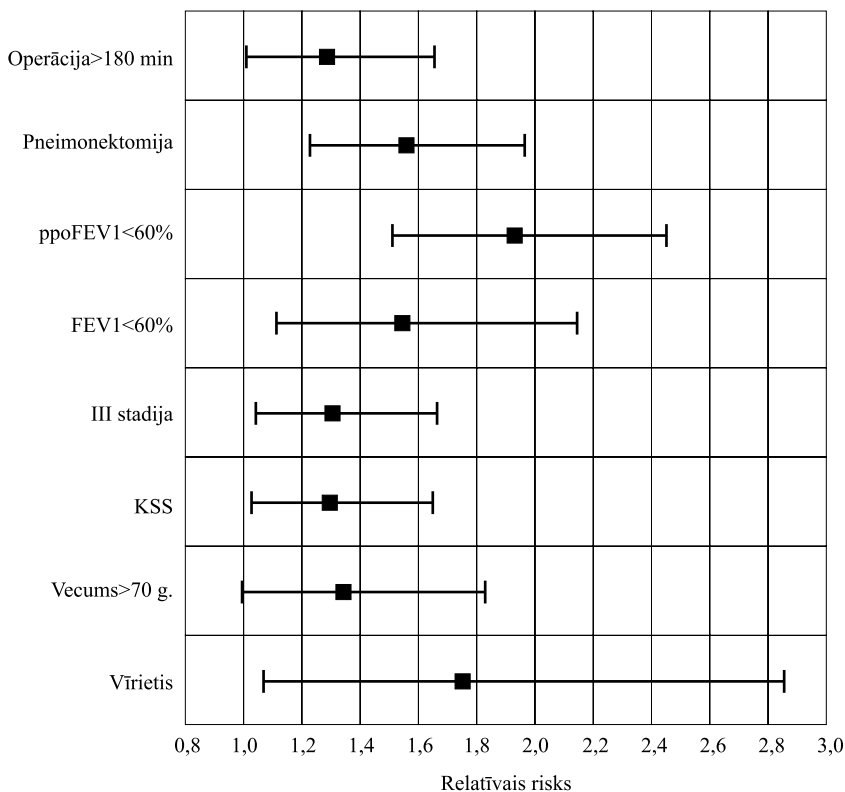
Biežākās pēcoperāciju komplikācijas

Komplikācijas nosaukums	Skaitis	Procenti
Letāls iznākums	15	3,3
Mirdzaritmija	38	8,4
Krēpu retence	33	7,3
Atkārtota operācija – torakotomija, retorakotomija	60	13,2
Atlieku dobums pēc lobektomijas	12	2,6
Bronhopleirāla fistula	9	1,9
Neiroloģiskas komplikācijas	5	1,1
Pankreatīts	27	5,9
Plaušu artērijās trombembolija	4	0,88
Stresa kuņģa čūla	3	0,66
Brūces vai atlikušās plaušas daļas infekcija	41	9,1
Akūts koronārs sindroms	31	6,8
Jebkādas komplikācijas kopā	171	37,7

Diskusija

Analizējot 453 operāciju rezultātus, konstatējām 3,3% pēcoperācijas letalitāti. Minētais lielums sakrīt ar citu autoru datiem. Literatūras dati par pēcoperācijas mirstību un iespējamajiem riska faktoriem apkopoti 3. tabulā. Tajā iekļauti vismaz vairāku simtu pacientu operāciju rezultāti. Arī pēcoperācijas komplikāciju skaits (37,7%) sakrīt ar citu autoru datiem. Šeit gan jāatzīmē grūtības komplikāciju reģistrēšanā – atsevišķas nenozīmīgas komplikācijas, piemēram, zemādas emfizēma, parasti netiek dokumentētas. Tādēļ mēs reģistrējām “smagas” komplikācijas, kuras var objektīvi dokumentēt un kuru dēļ nepieciešama medikamentoza vai ķirurģiska ārstēšana. Vienam pacientam var būt vienlaikus vairāk par vienu komplikāciju, tādēļ arī komplikāciju kopskaits (263) pārsniedz to pacientu skaitu (171), kam ir komplikācijas.

Liels pacientu vecums vēsturiski pirmais pierādīts kā būtisks paaugstinātas pēcoperācijas letalitātes riska faktors, taču mūsu veiktajā pētījumā vecums netika konstatēts kā statistiski ticams riska faktors. Analizējot literatūras datus, vecums kā riska faktors konstatējams pārsvarā publikācijās, kur analizēti operāciju rezultāti līdz 1995. gadam [8–13]. Vecums mūsu pētījumā tika konstatēts kā pēcoperāciju komplikāciju ($p=0,07$), nevis paaugstinātas mirstības riska faktors. Uzskatām, ka tas ir saistīts ar pēcoperācijas intensīvās terapijas ārstniecības metožu attīstību pēdējos gados – tas ļauj nodrošināt dzīvībai svarīgās funkcijas un panākt atveseļošanu arī komplikācijām pacientiem ar daudzām blakusslimībām.



2. grafiks. Komplikāciju riska faktori

Operācijas apjomu konstatējām kā būtisku mirstības un komplikāciju riska faktoru, kas sakrīt ar uzskatu, ka 30 dienu pēcoperācijas mirstība pēc pneimonektomijām ir lielāka nekā pēc lobektomijām. Šī atziņa laika gaitā nav mainījies un ir konstatējama gan 80. gadu publikācijās [9, 14], gan mūsdienu rakstos [7, 15–18]. Literatūrā izdevās atrast atsevišķas publikācijas, kur pneimonektomiju grupā ir mazāka mirstība nekā lobektomiju grupā [4, 19]. Uzskatām, ka tas saistīts ar pacientu atlasīšanu, kā arī jāatzīmē grūtības datu salīdzināšanā, jo vieni autori uzrāda 30 dienu mirstību, otri – intrahospitālo mirstību. Citi autori savukārt neizdala atsevišķas operāciju grupas [16, 20].

Arī tumora stadija kā būtisks paaugstinātas pēcoperācijas mirstības un komplikāciju riska faktors ir uzrādīts citu autoru darbos [21, 22]. Jāatzīst, ka operācijas apjoms un tumora stadija principā ir saistīti lielumi, jo parasti tālākas tumora stadijas dēļ nepieciešama plašāka apjoma operācija.

Ventilācijas mazspēja pirms operācijas kā riska faktors ir konstatēta daudzu autoru darbos. Dažādiem autoriem kā robežlīnija tiek piedāvātas dažādas FEV1 vērtības – <50% no pacienta individuālās normas [20], <70% [18], <80% [19]. Mūsu pētījumā kā statistiski ticams paaugstinātas pēcoperācijas letalitātes riska faktors tika konstatēts FEV1 < 60% no pacienta individuālās normas (t. i., vidēji smaga ventilācijas mazspēja). Interesanti, ka FEV1 < 40%, t. i., smagas pakāpes ventilācijas mazspēja

netika konstatēta kā riska faktors. Tas varētu būt saistīts gan ar nelielu novērojumu skaitu (kopumā 15 letāli iznākumi), gan ar plaušu tilpuma redukcijas efektu, kura dēļ pēc lobektomijas ventilācijas funkcija pat var uzlaboties [23, 24].

3. tabula

Pēcoperācijas 30 dienu letalitāte (pēc dažādu autoru datiem)

Autors	Vēres	Periods	Pacientu skaits	Pēcoperācijas letalitāte %			Konstatētie riska faktori
				Kopēja	Pneimonektomija	Lobektomija	
Ginsberg	[9]	1979-1981	2220	3,7	6,2	2,9	Operācijas apjoms, pac. vecums
Kohman	[10]	1972-1984	476	4,3	11,7	3,7	Operācijas apjoms, pac. vecums
Deslauriers	[8]	1978-1984	1076	3,2	-	-	Vīriešu dzimums, pac. vecums
Haahr	[14]	1982-1986	2898	7,2	11,2	3,5	Operācijas apjoms
Romano	[28]	1983-1986	12439	5,0	11,6	3,9	Slimnīcas lielums
Damhuis	[13]	1984-1992	1577	3,1	5,7	1,1	Operācijas apjoms, pac. vecums
Wada	[11]	1994	7099	1,3	3,2	1,2	Operācijas apjoms, pac. vecums
Sardelli	[12]	1985-1995	938	2,6	-	-	Pacientu vecums
Watanabe	[15]	1987-1996	1615	1,6	5,9	1,3	Operācijas apjoms
Stoelben	[22]	1987-1997	1281	4	6,7	3	Tumora stadija
Licker	[21]	1990-1997	621	3,2	7,9	1,9	Operācijas apjoms, KSS
Ambrogi	[27]	1990-1997	247	3,2	-	-	KSS
Bernard	[19]	1996-1998	500	6,6	7	9	Operācijas apjoms, FEV1<80%
Ruffini	[29]	1993-1999	1221	2,8	2,1	0,8	Nekonstatē
Vaporciyan	[30]	1990-1999	261	-	6,2	-	Smēķēšana
Foroulis	[25]	1995-1999	259	-	6,56	-	Gara operācija
Myrdal	[18]	1987-1999	616	2,9	5,7	0,6	Operācijas apjoms, FEV1<70%
Bonde	[20]	1997-1999	361	4,7	-	-	KSS, FEV1<50%
Alexiou	[17]	1991-2000	485	3,7	8	2,4	Operācijas apjoms
Rostad	[16]	1993-2000	763; >70 g. v.	9	-	-	Operācijas apjoms
Licker	[21]	1990-2000	193	-	9,3	-	KSS, tumora stadija
Birim	[4]	1989-2001	126;>70 g. v.	3,2	0	2,6	Nekonstatē
Algar	[26]	1990-2002	242	-	5,4	-	KSS, HOPS, pac. vecums
Watanabe	[15]	1997-2002	1655	0,8	5,9	1,3	Operācijas apjoms
Mūsu rezultāti	-	2000-2004	453	3,3	5,7	1,9	FEV1<60%, tumora stadija, operācijas apjoms

Operācijas ilgums, līdzīgi kā citiem autoriem [25], kā arī nepieciešamība operācijas laikā veikt asiņu preparātu transfūziju [19], tika konstatēti kā statistiski ticami pēcoperācijas komplikāciju riska faktori. Diemžēl nedz iespējamo operācijas ilgumu, nedz nepieciešamību pēc transfūzijas nevar paredzēt pirms operācijas.

Kardiālu saslimšanu anamnēzē, atšķirībā no citiem autoriem [20, 21, 26, 27], nekonstatējām kā statistiski ticamu mirstības riska faktoru. Iespējams, tas ir saistīts ar rūpīgo pirmsoperācijas izmeklēšanu – pacientiem ar stenokardiju tika veikta veloergometrija, nepieciešamības gadījumā – koronogrāfija, koronāro asinsvadu

stentēšana vai pat aortokoronāra šuntēšana. Kardiālas slimības anamnēzē gan tika konstatētas kā statistiski ticams pēcooperāciju komplikāciju riska faktors. Parasti šīs komplikācijas bija akūts koronārs sindroms vai sirdsdarbības ritma traucējumi. **Daudzprofilu slimnīcas iespējas** ļāva pieaicināt konsultantus kardiologus vai pat nodrošināt ārstēšanu specializētā kardioloģijas nodaļā, tāpēc šai pacientu grupai mirstība nepalielinājās. Arī literatūrā atrodami ziņojumi, ka lielākās slimnīcās ir mazāka pēcooperācijas letalitāte [28].

Īpatnējs ir ziņojums [29], kur, izanalizējot 1221 pacienta datus, nekonstatē statistiski ticamus riska faktoros.

Smēķēšanas saistība ar paaugstinātu komplikāciju vai mirstības biežumu, atšķirībā no citiem autoriem [30], netika konstatēta.

PpoFEV1<40%. Interesanta atradne ir 43 izoperētie pacienti ar prognozēto pēcooperācijas FEV1<40%. Pēc atsevišķu autoru datiem [7, 31], šādi pacienti ir neoperabli, taču mēs šajā smago pacientu grupā novērojām pēcooperācijas letalitāti 7% un komplikāciju biežumu 44%, kas nebija statistiski ticami vairāk nekā citiem pacientiem.

Secinājumi

Plaušu vēža ķirurģijā tika konstatēti šādi nozīmīgi pēcooperācijas mirstības riska faktori: III stadijas audzējs; plaša, traumatiska operācija; plaušu ventilācijas funkcijas traucējumi pirms operācijas. Kā iespējamu pēcooperācijas komplikāciju riska faktori konstatēti papildus arī vīriešu dzimums un kardiālas saslīmšanas anamnēzē. Riska faktoru apzināšana ļauj precīzāk novilkt robežu starp operējamiem un neoperabliem pacientiem. Relatīvā riska aprēķināšana ļauj precizēt, cik reizi operācijas risks konkrētam pacientam ir lielāks, salīdzinot ar citiem pacientiem.

Precīza mirstības riska noteikšana ļauj pacientam vieglāk izdarīt izvēli starp riskantu operāciju ar labāku dzīvildzes prognozi un mazāk riskantajām operācijām, bet mazāk efektīvām alternatīvajām ārstēšanas metodēm.

Jāsecina, ka plānotā pēcooperācijas ventilācijas funkcija, kas tiek aprēķināta ar līdz šim piedāvāto formulu palīdzību, nav statistiski ticams paaugstināta operācijas riska rādītājs.

Pateicība

Izsakām pateicību **Eiropas Sociālajam fondam** par finansiālu palīdzību pētījuma tapšanā.

LITERATŪRA

1. Sakkaraiappan R., Belani C. P. *Meaningful Survival in Lung Cancer Patients*. Seminars in Oncology, 2002, 29(4), pp. 125–131.

2. Deslauriers J. *Current Surgical Treatment of Nonsmall Cell Lung Cancer 2001*. Eur Respir J Suppl, 2002, 35, pp. 61–70.
3. Rocmans P. A. *Surgical Treatment of Nonsmall Cell Lung Cancer*, in *Lung Cancer*, S. Spiro., G., Editor. 2001, pp. 170–189.
4. Birim O., et al. *Lung Resection for Non-Small-Cell Lung Cancer in Patients Older Than 70: Mortality, Morbidity, and Late Survival Compared with the General Population*. Ann Thorac Surg, 2003, 76(6), pp. 1796–1801.
5. Filippetti M., et al., [*Experience of 10 Years with the Surgical Treatment of Lung Cancer in Elderly Patients*]. Chir Ital, 2001, 53(2), pp. 167–174.
6. Pagni S., Federico J. A., Ponn R. B. *Pulmonary Resection for Lung Cancer in Octogenarians*. Ann Thorac Surg, 1997, 63(3), pp. 785–789.
7. BTS-guidelines. *BTS Guidelines: Guidelines on the Selection of Patients with Lung Cancer for Surgery*. Thorax, 2001, 56(2), pp. 89–108.
8. Deslauriers J., et al. *Prospective Assessment of 30-Day Operative Morbidity for Surgical Resections in Lung Cancer*. Chest, 1994, 106(6 Suppl), pp. 329–330.
9. Ginsberg R. J., et al. *Modern Thirty-Day Operative Mortality for Surgical Resections in Lung Cancer*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1983, 86(5), pp. 654–658.
10. Kohman L. J., et al. *Random Versus Predictable Risks of Mortality after Thoracotomy for Lung Cancer*. J Thorac Cardiovasc Surg., 1986, 91((4)), pp. 551–554.
11. Wada H., Fukuse T., Hitomi S. *Long-Term Survival of Surgical Cases of Lung Cancer*. Lung Cancer, 1995, 13(3), pp. 269–274.
12. Sardelli P., Lopez C., Loizzi M. [*Lung Resection in the Elderly: Some Limits*]. Ann Ital Chir, 2003, 74(3), pp. 295–298.
13. Damhuis R. A., Schutte P. R. *Resection Rates and Postoperative Mortality in 7,899 Patients with Lung Cancer*. Eur Respir J, 1996, 9(1), pp. 7–10.
14. Haahr P. E., Andersen L. I., Andersen K. [*Surgical Treatment of Lung Cancer in Denmark in 1982–1986. Special Attention to the Surgical Procedure and Mortality*]. Ugeskr Laeger, 1991, 153(23), pp. 1652–1655.
15. Watanabe S., et al. *Recent Results of Postoperative Mortality for Surgical Resections in Lung Cancer*. Ann Thorac Surg, 2004, 78(3), pp. 999–1002; discussion 1002–1003.
16. Rostad H., et al. [*Is the Treatment of Lung Cancer in Norway Adequate?*]. Tidsskr Nor Laegeforen, 2002, 122(23), pp. 2258–2262.
17. Alexiou C., et al. *Do Women Live Longer Following Lung Resection for Carcinoma?* Eur J Cardiothorac Surg, 2002, 21(2), pp. 319–325.
18. Myrdal G., et al. *Outcome after Lung Cancer Surgery. Factors Predicting Early Mortality and Major Morbidity*. Eur J Cardiothorac Surg, 2001, 20(4), pp. 694–699.
19. Bernard A., et al. *Pneumonectomy for Malignant Disease: Factors Affecting Early Morbidity and Mortality*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2001, 121(6), pp. 1076–1082.
20. Bonde P., et al. *Lung Surgery: Identifying the Subgroup at Risk for Sputum Retention*. Eur J Cardiothorac Surg, 2002, 22(1), pp. 18–22.
21. Licker M., et al. *Risk Factors for Acute Lung Injury after Thoracic Surgery for Lung Cancer*. Anesth Analg, 2003, 97(6), pp. 1558–1565.
22. Stoelben E., et al. *Tumor Stage and Early Mortality for Surgical Resections in Lung Cancer*. Langenbecks Arch Surg, 2003, 388(2), pp. 116–121.
23. Carretta A., et al. *Improvement of Pulmonary Function after Lobectomy for Non-Small Cell Lung Cancer in Emphysematous Patients*. Eur J Cardiothorac Surg, 1999, 15(5), pp. 602–607.
24. Kopeika U., Bashko J., Taivans I. *Is the Lung Emphysema Contraindication to Radical NSCLC Surgery?* Eur Respir J, 2001, 18(33), p. 94.

25. Foroulis C. N., et al. *Factors Associated with Cardiac Rhythm Disturbances in the Early Postpneumonectomy Period: A Study of 259 Pneumonectomies*. Eur J Cardiothorac Surg, 2003, 23, pp. 384–389.
26. Algar F. J., et al. *Predicting Pulmonary Complications after Pneumonectomy for Lung Cancer*. Eur J Cardiothorac Surg, 2003, 23(2), pp. 201–208.
27. Ambrogi V., et al. *The Impact of Cardiovascular Comorbidity on the Outcome of Surgery for Stage I and II Non-Small-Cell Lung Cancer*. Eur J Cardiothorac Surg, 2003, 23(5), pp. 811–817.
28. Romano P. S., Mark D. H. *Patient and Hospital Characteristics Related to in-Hospital Mortality after Lung Cancer Resection*. Chest, 1992, 101, pp. 1332–1337.
29. Ruffini E., et al. *Frequency and Mortality of Acute Lung Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome after Pulmonary Resection for Bronchogenic Carcinoma*. Eur J Cardiothorac Surg, 2001, 20(1), pp. 30–36, discussion 36–37.
30. Vaporciyan A. A., et al. *Incidence of Major Pulmonary Morbidity after Pneumonectomy: Association with Timing of Smoking Cessation*. Ann Thorac Surg, 2002, 73(2), pp. 420–425; discussion 425–426.
31. Bolliger C. T., Perruchoud A. P. *Functional Evaluation of the Lung Resection Candidate*. Eur Respir J, 1998, 11(1), pp. 198–212.

Summary

Objectives: The aim of this study was to assess the mortality rate and the incidence of complications after lobectomy or pneumonectomy for non-small cell lung carcinoma and to identify possible associated risk factors.

Methods: We prospectively analysed all surgical cases from January 1, 2000, to December 31, 2004. 176 pneumonectomies, 257 lobectomies and 20 bilobectomies were performed. Patients' median age was 61+/-8 years. The following information was recorded: demographic, clinical, functional, and surgical variables; as well as intraoperative and postoperative events. The risk of mortality and cardiopulmonary complications was evaluated to estimate relative risk (RR) and 95% confidence intervals (CI).

Results: The 30-day mortality rate was 3.3%, and cardiovascular and/or pulmonary complications occurred in 37.7% of cases. The best predictors for 30-day mortality were: FEV1<60% predicted (RR, 6.58; 95% CI, 2.39 to 18.09), pneumonectomy (RR 3.15, CI 1.09-9.06) and tumour stage III (RR 3.88, CI 1.35-11.16).

Conclusions: The best predictors for early postoperative mortality are extent of surgery, tumour stage III and ventilatory failure before surgery. In contrast to other authors we did not find relevance between predicted postoperative ventilatory function and increased postoperative mortality rate.

This study was supported in part by the European Social Foundation (ESF).

Melanokortīnu receptora 1. apakštipa ekspresijas regulācija makrofāgu šūnu līnijā RAW264.7

Līga Krīgere¹, Kristīne Saleniece¹, Līga Zvejniece^{1,2} Edgars Liepiņš^{1,2},
Reinis Vilšķērsts^{1,2}, Maija Dambrova², Ruta Muceniece¹

¹Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: Ruta.Muceniece@lu.lv

²Latvijas Organiskās sintēzes institūts
Aizkraukles iela 21, Rīga, LV-1006
E-pasts: md@biomed.lu.lv

Melanokortīnu (MK) receptoru atklāšana uz imūnās sistēmas šūnām ļauj izmantot šīs šūnu kultūras attiecīgo receptoru ligandu afinitātes un sekundāro signālmolekulu līmeņu izmaiņu noteikšanai. Stimulējot makrofāgus ar interferonu- γ un baktēriju lipopolisaharīdiem, tiek panākta pastiprināta slāpekļa oksīda producēšanās, kas tiek uzskatīta par iekaisuma indikatoru. Šī darba mērķis bija noskaidrot, vai iekaisuma modelī izmainās makrofāgu membrānās esošā MK1 receptoru apakštipa ekspresija. Izmantojot radioligandu saistīšanās metodi, tika iegūti rezultāti, kas liecina, ka stimulētos makrofāgos pastiprinās MK1 receptora ekspresija, kuru regulē α -melanocītstimulējošais hormons un tā C-gala tripeptīds.

Atslēgvārdi: melanokortīni, makrofāgi, iekaisums, radioligandu saistīšanās.

Ievads

Pēdējos gados ir pierādīts, ka MK pretiekaisuma darbība notiek tāpēc, ka tiek nomākta transkripcijas faktora NF-kB translokācija no šūnas citoplazmas uz kodolu un līdz ar to tiek nomākta inducējamā slāpekļa oksīda sintēze un samazinās NO līmenis [5, 3, 11]. Pētot MK receptoru apakštipu izplatību un lokalizāciju dažādos orgānos un šūnās, sākotnēji tika pierādīta 1. apakštipa (MKR1) esamība imūnās sistēmas šūnu membrānās [11, 6]. Tomēr vēlāk tika atklāts, ka makrofāgi ekspresē arī 3. MK receptoru apakštipu [11]. Pateicoties MK receptoru atrašanās vietu pētījumiem, attīstījās hipotēze, ka selektīvi MK receptoru ligandi varētu būt jaunu pretiekaisuma līdzekļu prototipi. Paši MK peptīdi senāk bija pazīstami galvenokārt kā endogēnie aģenti, kas stimulē ādas pigmentāciju [1], un tika pētīti jau ilgu laiku pirms pirmā MK receptora klonēšanas 1992. gadā [11]. Līdz šim no visiem MK saistībā ar pigmentāciju un melanomu visplašāk pētīts α -melanocītstimulējošais hormons (α -MSH).

1989. gadā tika publicēts pētījums [2] par ādas pastiprinātas pigmentācijas cēloni (pastiprināta pigmentācija dažreiz veidojas kā iekaisuma sekas). Šajā pētījumā pirmo reizi tika pieminēta interferona- γ (IFN- γ) spēja kopā ar α -MSH (bet ne atsevišķi)

stimulēt melanīna producēšanos JB/MS melanomas šūnās un vienlaikus stimulēt MK receptoru ekspresiju melanocītos. Ar šādu α -MSH potencējošo darbību tika skaidrots IFN- γ efekts uz pigmentu sintēzi pēciekaisuma periodā. Mūsu iepriekšējos pētījumos IFN- γ tika lietots kopā ar baktēriju lipopolisaharīdiem (LPS), lai pastiprinātu NO producēšanos makrofāgos *in vitro* eksperimentos [4], un tika novērots, ka MK inhibē šo iekaisuma aģentu darbību, samazinot NO sintēzi. Turklāt mūsu novērojumi liecina, ka ne tikai endogēnie MK, kas saistās ar MK receptoriem, bet arī α -MSH C-gala tripeptīds, kurš nesaistās ne ar vienu no MK receptoru apakštipiem, spēj inhibēt LPS un IFN- γ izraisīto NO līmeņa pieaugumu [4]. Tomēr iepriekšējie NO līmeņa mērījumi neliecināja par MK receptoru ekspresijas izmaiņām iekaisuma procesos.

Šī darba mērķis bija pētīt izmaiņas MKR1 ekspresijā peļu makrofāgu šūnu līnijā RAW264.7 pēc stimulācijas ar endotoksīniem un noteikt dabīgā liganda α -MSH un tā C-gala tripeptīda ietekmi uz receptoru ekspresijas izmaiņām *in vitro* iekaisuma modelī.

Materiāli un metodes

Peļu makrofāgu šūnu līnija RAW264.7 tika nopirkta no ATCC šūnu bankas (ATCC TIB-71). Visi šūnu audzēšanas reaģenti un barotne RPMI-1640 tika saņemti no *Life Technologies* (Zviedrija). Visi ķīmiskie reaģenti, ieskaitot LPS un IFN- γ , tika nopirkti no *Sigma Chemicals Co* (Zviedrija). Radioaktīvais ligands [125 J]-NDP-MSH tika saņemts no *Amersham* (Zviedrija). Peptīdi tika nopirkti no *Bachem* (Šveice).

Peļu makrofāgu šūnas RAW264.7 tika audzētas un pavairotas šūnu barotnē RPMI-1640. Eksperimentam šūnas tika sadalītas pa 500 000 šūnu katrā lauciņā 96 lauciņu platē. Atbilstoši eksperimenta dizainam daļa šūnu netika stimulētas un tās izmantoja kontrolei, citas tika stimulētas ar LPS (no *Escherichia coli*) un IFN- γ dažādās koncentrācijās, kā arī ar endotoksīniem (LPS 100 ng/ml + IFN- γ 5 darbības vienības/ml) kopā ar α -MSH un tā C-gala tripeptīdu dažādās koncentrācijās. Pēc 16 stundu inkubācijas šūnu inkubatorā šūnu barotne kopā ar pievienotām vielām tika nolieta un šūnu monoslānis divas reizes noskalots ar buferšķīdumu (MEM pH=7.0). Radioligandu saistīšanās metode tika veikta, kā aprakstīta iepriekš [9]. Iezīmētais ligands [125 J]-NDP-MSH tika pievienots konkurences līknēm 0,2 nM koncentrācijā, bet pētāmās vielas – dažādās koncentrācijās. Piesātinājuma līknēm iezīmētais NDP-MSH tika pievienots kontroles šūnām un stimulētām šūnām pēc 16 stundām dažādās koncentrācijās līdz pārākuma piesātinājuma koncentrācijai – 15 nM. Nespecifiskā saistīšanās tika noteikta ar NDP-MSH 1 μ M koncentrācijā. Pēc tam šūnas tika inkubētas 2 stundas. Pēc inkubācijas šūnas tika noskalotas 2 reizes ar buferi un izšķīdinātas 0,1 N NaOH šķīdumā. Izšķīdināto šūnu radioaktivitāte tika skaitīta ar *Wallac-Wizard* gamma skaitītāju, un iegūtie dati analizēti ar *BindAid* datorprogrammu. Aprēķinot receptoru skaitu uz 1 šūnu, tika pieņemts, ka 1 NDP-MSH molekula saistās ar 1 receptora molekulu. Eksperimenti tika veikti ar 2–3 paralēliem mērījumiem un atkārtoti 3–4 reizes.

Rezultātu statistiskā analīze tika veikta ar Studenta T-testu un ticamība noteikta kā $P < 0,05$.

Rezultāti

Iegūtie rezultāti liecina, ka miera stāvoklī RAW264.7 šūnas ekspresē nelielu MK receptoru skaitu, kas sasniedz 300–500 saistīšanās vietas uz šūnu (1. att.). IFN- γ (1. att. A) koncentrācijās 1 un 5 darbības vienības/ml pastiprina MKR1 ekspresiju uz šūnu membrānām līdz 1000–1500 saistīšanās vietām uz šūnu. LPS (1. att. B) 50 un 100 ng/ml koncentrācijā palielina MKR1 skaitu uz šūnu attiecīgi līdz 800 un 1000. Kā liecina aprēķini, IFN- γ ietekme izpaužas spēcīgāk nekā LPS. 1. attēla C un D daļā parādīts, ka, pievienojot šūnu barotnei vienlaikus IFN- γ 5 darbības vienības/ml + LPS 100 ng/ml, abu endotoksīnu efekti nesummējas, bet saglabājas it kā IFN- γ raksturīgais efekts. Šī LPS un IFN- γ koncentrāciju attiecība tika izvēlēta tāda pati, kā tika lietota iepriekš RAW264.7 šūnu *in vitro* iekaisuma modelī [3, 4].

α -MSH un tā C-gala tripeptīds no 1 nM līdz 1 μ M koncentrācijā neietekmē receptoru skaitu uz šūnu miera stāvoklī 16 stundu laikā (dati nav parādīti), bet stimulētās šūnās atkarībā no koncentrācijas inhibē MK receptoru pieaugumu. Kā redzams 1. attēlā C daļā, α -MSH 10 nM koncentrācijā normalizē receptoru skaitu uz šūnu, kamēr MSH C-gala tripeptīds (MSH11-13) šādu efektu uzrāda 100 reizes lielākā koncentrācijā – 1 μ M. Turklāt α -MSH statistiski ticamas atšķirības uzrāda jau 1 nM koncentrācijā, bet tā C-gala tripeptīds – 100 nM koncentrācijā.

Ne LPS, ne IFN- γ paši nekonkurē ar iezīmēto ligandu NDP-MSH par saistīšanās vietām pie MKR1, un konkurences līknes neveidojas (dati nav parādīti).

2. attēlā ir parādītas piesātinājuma līknes, kurām augšējā līkne atspoguļo totālo saistīšanos, bet apakšējā – nespecifisko saistīšanos. Starpība starp šīm līknēm ir specifiskā saistīšanās pie receptoriem. To var piesātināt, un tādēļ tā sasniedz plato stāvokli, kamēr nespecifiskā saistīšanās pieaug lineāri, palielinoties iezīmētā liganda koncentrācijai, un nav piesātināma, jo nav atkarīga no receptoru skaita. Nespecifisko saistīšanos nosaka ar ļoti lielu neiezīmētā liganda koncentrāciju, nobloķējot iespējamos receptorus tā, lai iezīmētais ligands saistītos tikai pie nespecifiskiem proteīniem. Šajā eksperimentā tika lietota 1 μ M neiezīmētā NDP-MSH koncentrācija. Piesātinājuma līkņu analīze parāda (2. att. A), ka šūnu barotnei pievienotais LPS (100 ng/ml) kopā ar IFN- γ (5 darbības vienības/ml) palielina starpību starp totālās un nespecifiskās saistīšanās līknēm, t. i., palielina specifisko saistīšanos, sasniedzot specifiskās saistīšanās plato stāvokli ap 0,6–0,7 nM līmenī. Kontroles šūnās receptoru skaits ir mazāks un tie tiek piesātināti, jau sākot no 0,15 nM (2. att. B). Tālāk NDP-MSH specifiskā saistīšanās nepieaug. Tomēr receptoru skaita izmaiņas neietekmē radioaktīvā liganda NDP-MSH afinitāti. Tā abos gadījumos atbilst NDP-MSH disociācijas konstantei $K_d=0,12\pm 0,03$ nM, saistoties ar MKR1, kas ir publicēta arī mūsu iepriekšējos pētījumos [9]. Nespecifiskā saistīšanās NDP-MSH kontroles šūnām un stimulētām šūnām nav izmainīta. Tā, palielinot NDP-MSH koncentrāciju, pakāpeniski pieaug no 0 līdz 0,1 nM.

Diskusija

Radioligandu saistīšanās metodi mēs un citi esam lietojuši, raksturojot endogēno ligandu un sintētisko mimētiķu afinitāti pret MK receptoriem, kā arī izvērtējot ligandu receptoru selektivitāti. Tika atklāts, ka dabīgie MK saistās pie MK receptoru apakštipiem, uzrādot afinitātes rindu: MKR1>MKR3>MKR4>MKR5, un ka sintētiskais analogs NMD-MSH ir neselektīvs, bet augstas afinitātes visu MKR ligands [9, 10].

Mazāk pēfīta ir dažādu vielu ietekme uz MK receptoru ekspresiju, kas var būt gan stimulēta (*up-regulated*), gan nomākta (*down-regulated*). Šāda veida eksperimentos izvērtē receptoru skaitu uz šūnu vai izrēķina pēc piesātinājuma līknēm, cik liela ir receptora proteīna frakcija molos uz 1 mg kopīgo veselu šūnu vai šūnu membrānu proteīniem. Receptoru skaitu aprēķina, ņemot vērā receptora trīsdimensiālo modeli, kas pieļauj vienas liganda molekulas saistīšanos pie 1 receptora molekulas [7].

Šajā darbā pētītajām vielām α -MSH un tā C-gala fragmentam ir kopīgas un atšķirīgas īpašības. α -MSH saistās pie MK receptoriem un uzrāda spēcīgu pretiekaisuma darbību [3, 5], kamēr α -MSH11-13 jeb C-gala tripeptīds uzrāda tikpat spēcīgu pretiekaisuma darbību, nesaistīdamies pie MKRs [4]. Līdz šim vēl nav atklāts šī tripeptīda primārais mērķobjekts šūnas membrānā. Šajos eksperimentos pirmo reizi ir parādīta α -MSH11-13 netieša saistība ar MKR-erģiskiem procesiem, par ko liecina tā spēja regulēt MK receptoru skaitu uz šūnu. Tomēr bija vajadzīga apmēram 100 reīžu lielāka α -MSH11-13 koncentrācija, lai iegūtu efektu, kādu dod α -MSH.

Iespējams, makrofāgu šūnā eksistē atgriezeniskās saites mehānisms, kuru regulē signālmolekulu līmeņu izmaiņas, kas notiek šūnas iekšpusē. Ir zināms, ka dabīgie MK stimulē cAMF veidošanos šūnās, kas tālāk pārnes signālu šūnas iekšpusē. Tomēr α -MSH11-13 nestimulē cAMF veidošanos [4], tāpēc iespējams, ka α -MSH11-13 gadījumā tiek iesaistītas citas signālmolekulas, piemēram, NO, jo iepriekšējos pētījumos tika parādīta α -MSH11-13 NO pārmērīgas producēšanās inhibīcijas spēja [4,3].

Kā bija sagaidāms, LPS un IFN- γ ir MKR1 svešas struktūras molekulas un pie MKR nesaistās – to pierādīja konkurences eksperimenti ar iezīmēto NDP-MSH.

NDP-MSH ir sintētisks α -MSH analogs, kas tiek izmantots kā radioaktīvā iezīme MKR pētījumos, jo tam ir augsta afinitāte pret visiem MKR apakštipiem un enzimatiska stabilitāte [8]. LPS un IFN- γ darbojas uz šūnu, saistoties attiecīgi pie saviem šūnas membrānas receptoriem. Tie nekonkurē un arī alostēriski nesaistās pie MKR1. Par to liecina iegūtie dati, kas parāda, ka NDP-MSH afinitāte netika ietekmēta. Tomēr ar LPS un IFN- γ stimulētiem makrofāgiem piesātinājuma līknes parādīja aptuveni trīs reizes augstāku NDP-MSH specifisko saistīšanos, kas pierāda, ka uz stimulētām šūnām ir lielāks receptoru skaits nekā uz kontroles šūnām.

Pēc šī pētījuma var secināt, ka MK receptoru ekspresija uz RAW264.7 šūnām ir dinamiska un mainās atkarībā no tā, vai šūnas ir miera vai stimulētā stāvoklī. Iekaisuma modelī MKR1 skaits šūnu membrānās pieaug. IFN- γ spēcīgāk nekā LPS izraisa MKR1 ekspresijas pieaugumu. Savukārt α -MSH un α -MSH11-13 spēj regulēt MK receptoru ekspresiju makrofāgu līnijā RAW264.7, lielākās koncentrācijās pat normalizējot receptoru skaitu uz šūnu.

Iespējams, ka melanokortīnu receptoru skaita pieaugums iekaisuma apstākļos veicina šūnas aizsargmehānismu ieslēgšanos, sekundāro signālmolekulu atbrīvošanos un makrofāgu atbildētspēju uz MK receptoru ligandu stimulāciju.

Pateicības

Paldies par Latvijas Zinātnes padomes granta 05.1419 atbalstu šī darba tapšanā.

Līga Krīgere, Līga Zvejniece un Edgars Liepiņš saņem ESF sociālos doktorantūras grantus un ir LU K. Morberga fonda stipendiāti.

LITERATŪRA

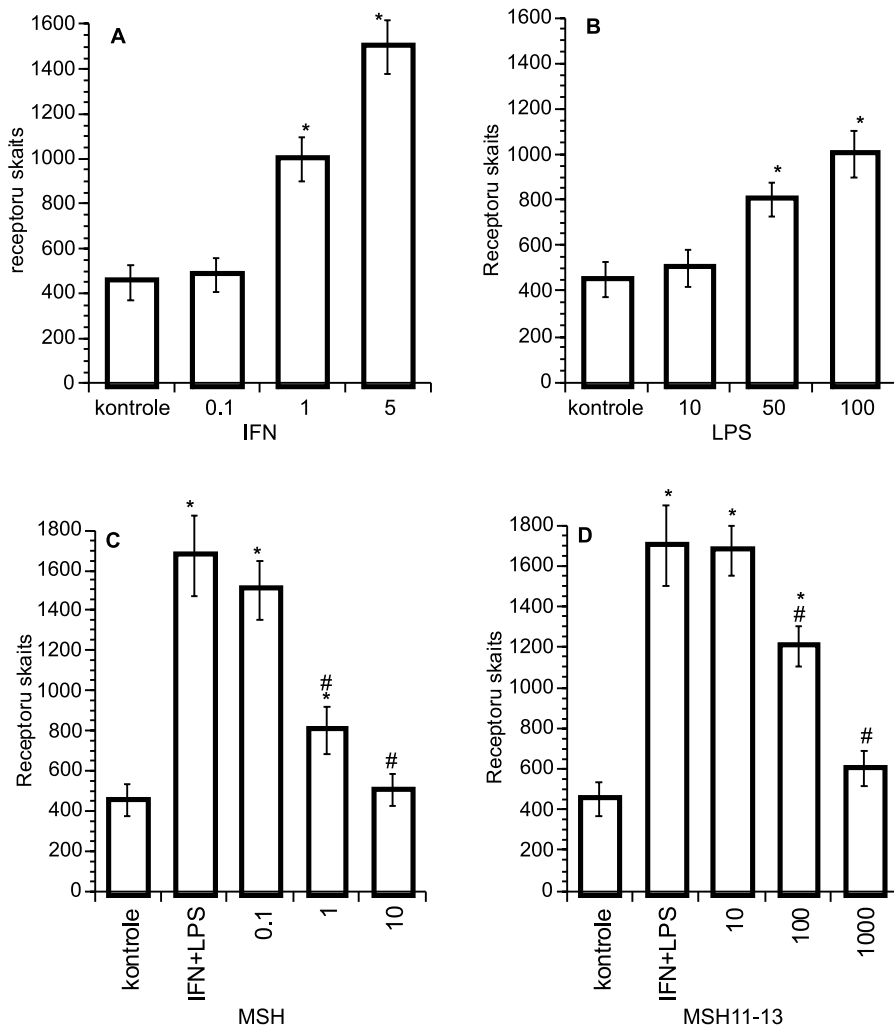
1. Eberle A., Schwyzer R. *Hormone-Receptor Interactions. Demonstration of Two Message Sequences (Active Sites) in Alpha-Melanotropin*. *Helv. Chim. Acta*, 1975, 58, pp. 2106–2129.
2. Kameyama K., Tanaka S., Ishida Y., Hearing V. J. *Enterferons Modulate the Expression of Hormone Receptors on the Surface of Murine Melanoma Cells*. *J. Clin. Invest.*, 1989, 83, pp. 213–221.
3. Mandrika I., Muceniece R., Wikberg J. E. S. *Effects of Melanocortin Peptides on Lipopolysaccharide/Interferon-Gamma-Induced NF-Kappab DNA Binding and Nitric Oxide Production in Macrophage-Like RAW 264.7: Evidence for Dual Mechanisms of Action*. *Biochem. Pharmacol.*, 2001, 61, pp. 613–621.
4. Muceniece R., Krigere L., Suli-Vargha H., Wikberg J. E. *Effects of Alpha-Melanotropine C-Terminal Tripeptide Analogues on Macrophage NO Production*. *Peptides*, 2003, 24, pp. 701–707.
5. Muceniece R., Zvejniece L., Kirjanova O., Liepinsh E., Krigere L., Baumane L., Kalvinsh I., Wikberg J. E., Dambrova M. *Beta- and Gamma-Melanocortins Inhibit Lipopolysaccharide Induced Nitric Oxide Production in Mice Brain*. *Brain Res.*, 2004, 995(1), pp. 7–13.
6. Neumann-Andersen G., Nagajeva O., Mandrika I., Petrovska R., Muceniece R., Mincheva-Nilsson L., Wikberg J. E. *MC(1) Receptors are Constitutively Expressed on Leucocyte Subpopulations with Antigen Presenting and Cytotoxic Functions*. *Clin. Exp. Immunol.* 2001,126, pp. 441–446.
7. Prusis P., Schioth H. B., Muceniece R., Herzyk P., Afshar M., Hubbard R. E., Wikberg J. E. *Modeling of the Three-Dimensional Structure of the Human Melanocortin 1 Receptor; Using an Automated Method and Docking of a Rigid Cyclic Melanocyte-Stimulating Hormone Core Peptide*. *J. Mol. Graph. Model.* 1997, 334, pp. 307–317.
8. Sawyer T. K., San Filippo P. J., Hruby V. J., Engel M. H., Heward C. B., Burnett J. B., Hadley M. E. *4-Norleucine, 7-D-Phenylalanine-Alpha-Melanocyte-Stimulating Hormone. A Highly Potent Alpha-Melanotropin with Ultralong Activity*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980, 77, pp. 5754–5758.
9. Schioth H., Muceniece R., Wikberg J. E. S., Chhajlani V. *Characterization of Melanocortin Receptor Subtypes by Radioligand Binding Analysis*. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995, 288, pp. 311–317.
10. Schioth H., Muceniece R., Wikberg J. E. S. *Characterisation of Melanocortin 4 Receptor by Radioligand Binding Analysis*. *Pharmacol&Toxicol.*, 1996, 79, pp. 161–165.
11. Wikberg J. E., Muceniece R., Mandrika I., Prusis P., Lindblom J., Post C., Skottner A. *New Aspects on the Melanocortins and their Receptors*. *Pharmacol Res.*, 2000, 42, pp. 393–420.

Summary

Melanocortin (MC) receptor localization studies revealed MC receptor subtype 1 and 3 presence on the cells of the immune system that promoted the use of these cell cultures in the radioligand binding and intracellular signalling assays. In macrophages it was shown that bacterial lipopolysaccharides (LPS) and interferon- γ (IFN- γ) stimulate cells to increase the production of nitric oxide (NO) reaching the cell-toxic levels. The overproduction of NO is assumed to be an indicator of inflammation and substances that decrease the NO level – anti-inflammatory agents.

The aim of the present studies was to investigate the expression level of the MC receptor 1st subtype on the mice macrophage cell line RAW264.7 during the inflammation. Moreover, we evaluated the influence of the α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) and its C-terminal tripeptide on the number of the receptors per cell. By using the radioligand-binding assay the concentration dependent increase of the receptor number per cell was observed after cell stimulation with both endotoxins. Combination of LPS and IFN- γ at the same concentrations as used in the *in vitro* inflammation model earlier was applied to test the regulatory potency of the α -MSH and α -MSH11-13 on the up regulated MC1 receptor expression level. Both peptides demonstrated concentration dependent down regulation of receptor expression. However, C-terminal tripeptide showed 100 times lower potency than the whole peptide.

We conclude that MC receptor expression level is a dynamic process that depends on the cell status – resting or stimulated. The increase in the receptor number per cells during inflammation possibly strengthens cell defence mechanisms against oxidative stress.

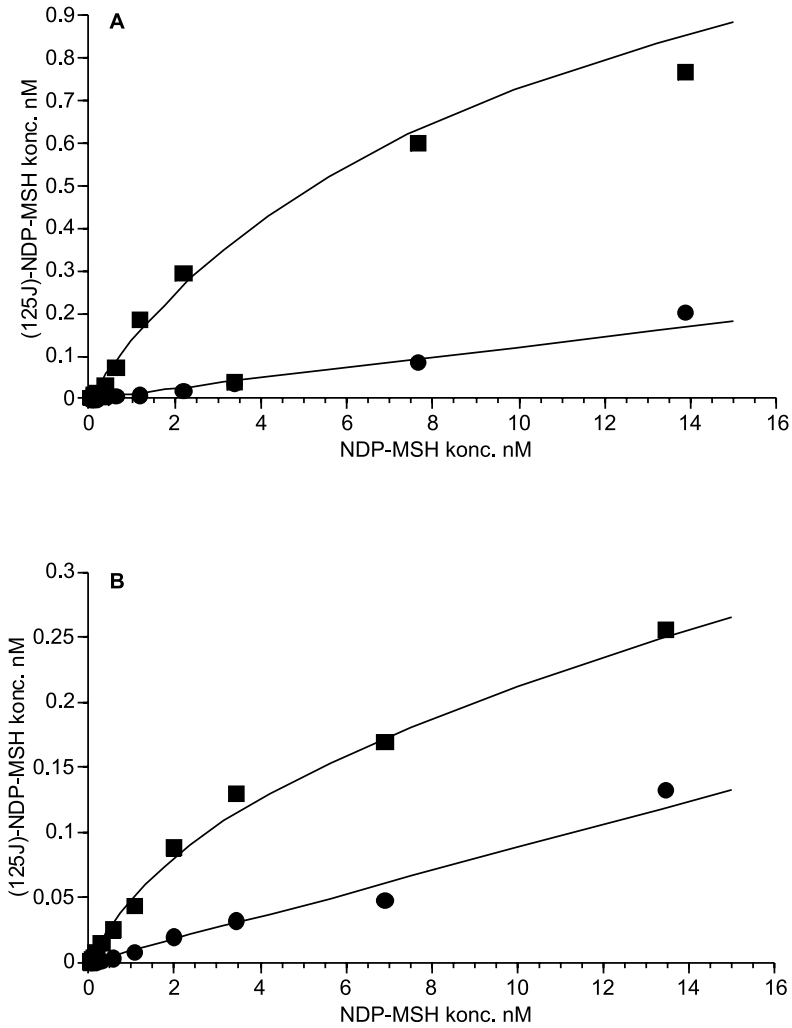


1. att. A. IFN- γ (darbības vienības/ml), B. LPS (ng/ml) ietekme uz MKR receptoru skaitu/šūnu. C. α -MSH (nM), D. α -MSH11-13 (nM) ietekme uz MKR1 receptoru skaitu/šūnu, pievienojot tos attiecīgā koncentrācijā šūnu barotnei kopā ar IFN- γ 5 vienības/ml un LPS 100 ng/ml

Rezultāti attēloti kā vidējais mērījums \pm vidējā standartklūda no 3 neatkarīgiem eksperimentiem.

* $P < 0,05$, salīdzinot ar kontroli

$P < 0,05$, salīdzinot ar IFN- γ + LPS datiem



2. att. A. NDP-MSH piesātinājuma līknes pēc 16 stundu šūnu stimulācijas ar IFN- γ 5 vienības/ml + LPS 100 ng/ml

B. NDP-MSH piesātinājuma līknes kontroles RAW264.7 šūnās

Augšējās līknes attēlo kopējo totālo [¹²⁵J]-NDP-MSH saistīšanos, apakšējās – nespecifisko saistīšanos, kad specifiskās saistīšanās vietas pie MKR1 ir nobloķētas ar 1 μ M neiezīmēta NDP-MSH.

HHV-6 un HHV-7 asociācija ar Gijēna-Barē sindromu Association of HHV-6 and HHV-7 with Guillain-Barre Syndrome

Zaiga Nora, Ilga Ķikule¹, Svetlana Čapenko, Ināra Logina²,
Modra Murovska

LU Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts
Rātsupītes iela 1a, Rīga, LV-1067
E-pasts: znora@one.lv

¹ Bērnu klīniskā universitātes slimnīca
Vienības gatve 45, Rīga, LV-1004
E-pasts: ilga.k@one.lv

² Rīgas Stradiņa universitāte
Dzirciema iela 16, Rīga, LV-1007
E-pasts: logini@navigator.lv

Ir daudz neskaidrību par etioloģiskiem un citiem faktoriem, kas ietekmē hronisku iekaisīgu un autoimūnu slimību klīnisko gaitu. Dažu pēdējo gadu laikā liela uzmanība tiek pievērsta β-herpesvīrusiem, parādot, ka tie ir iesaistīti iekaisīgu un autoimūnu CNS un PNS slimību attīstībā. Ļoti maz ir zināms par šo vīrusu klīnisko ietekmi uz Gijēna-Barē sindromu – akūtu iekaisīgu demielinizējošu polineuropātiju, kuras etioloģija un patoģenēze vēl aizvien pilnībā nav skaidra.

Mērķis. Noteikt iespējamo β-herpesvīrusu HHV-6 un HHV-7 asociāciju ar GBS.

Pacienti un metodes. Pētījumā bija iekļauti 30 pacienti (16 vīrieši, 14 sievietes; vidējais vecums 41 gads), kuriem slimība diagnosticēta pēc vispārpieņemtiem *Asbury A. K.* un *Cornblath D. R.* klīniskajiem kritērijiem un 150 asins donori (73 vīrieši, 77 sievietes; vidējais vecums 37 gadi) kā kontroles grupa. Latenti persistējoša un aktīva HHV-6 un HHV-7 infekcija bija diagnosticēta ar polimerāzes ķēdes reakciju ar iekšējo praimēšanu (nPCR), izmantojot DNS, kas izolēta no PBL un plazmas. Vīrusālās mRNS klātbūtne PBL bija diagnosticēta ar RT-PCR.

Rezultāti. PBL DNS 11 (36,6%) pacientiem konstatēja HHV-6 un 26 (86,6%) pacientu PBL DNS – HHV-7 genoma secību klātbūtni. Statistiski ticama atšķirība latenti persistētējošas vīrusu infekcijas biežuma ziņā starp izmeklētajām grupām netika novērota.

HHV-6 genoma sekvenču asins plazmas DNS atrada 3/11 (27,2%) pacientiem, savukārt neatrada nevienam no asins donoriem ($p < 0,05$), HHV-7 genoma sekvenču asins plazmas DNS – 11/26 (42,3%) pacientiem un 12/113 (10,6%) asins donoriem ($p < 0,05$). Nevienā no paraugiem vīrusa mRNS transkripciju nekonstatēja, kas apstiprina, ka vīruss patiešām ir latentā stāvoklī.

Secinājumi. Tika parādīts, ka HHV-7 un HHV-6 ir zināma nozīme GBS etiopatogēnēzē, taču, lai pilnībā izprastu vīrusu un slimības mijiedarbību, ir jāturpina iesaistītie pētījumi, jo GBS ir neiromuskulāras paralīzes visbiežākais cēlonis.

Atslēgvārdi: HHV-6, HHV-7, latenti persistējoša infekcija, aktīva infekcija, GBS.

Key words: HHV-6, HHV-7, latent/persistent infection, active infection, GBS.

Ievads

Gijēna-Barē (*Guillain-Barre*) sindroms (GBS) jeb akūta iekaisīga demielinizējoša polineuropātija ir perifērās nervu sistēmas slimība ar difūzu tās elementu bojājumu. Tā ir autoimūna patoloģija, kuras dēļ rodas imūna iekaisuma izraisīts nervu un saknīšu mielīna apvalku sabrukums jeb demielinizācija un arī aksonu funkcijas traucējums. Tiek uzskatīts, ka galvenais demielinizācijas process notiek pēc T-limfocītu medītētās šūnu citotoksiskās hipersensibilizācijas reakcijas neadekvātas imūnās atbildes dēļ. Fakts, ka lielākajai daļai pacientu vienu līdz trīs nedēļas pirms GBS simptomu parādīšanās ir bijusi vīrusinfekcija (parasti respiratora vai kuņģa–zarnu trakta, kā arī CMV un EBV), liek piekrist šai domai [1]. Arī *Campylobacter jejuni* un *Mycoplasma pneumoniae* tiek uzskatītas par vienu no galvenajiem GBS izraisošajiem faktoriem [2]. GBS tiek uzskatīts par biežāko akūtas šļauganas paralīzes cēloni mūsdienās. GBS progresē strauji, klīniskie simptomi var būt dažādi, taču parasti slimība sākas ar muskuļu vājumu, kas variē no viegli izteiktas vājuma sajūtas kājās un rokās līdz totālai ekstremitāšu paralīzei; no plaukstu vai pēdu distālo daļu tirpšanas līdz refleksu zudumam. 40% GBS slimnieku ir elpošanas muskuļu paralīze, arī sirds un asinsvadu sistēmas darbība var būt traucēta [2]. Ar GBS parasti slimo 50–74 gadu vecumā, vīrieši biežāk nekā sievietes, taču ir gadījumi, kad saslimst ļoti jauni cilvēki un pat jaundzimušie [3].

Lai gan ir zināmi dati par atsevišķu infekciozo aģentu nozīmi GBS patoģenēzē, tomēr ir maz informācijas par vīrusu nozīmi tā izcelsmē un norisē, jo vēl aizvien slimības etioloģija un patoģenēze nav pilnībā izpētīta. Pēdējo gadu laikā liela uzmanība ir pievērsta β-herpesvīrusiem (CMV, HHV-6, HHV-7), parādot, ka tie ir iesaistīti iekaisīgu un autoimūnu centrālās (CNS) un perifērās (PNS) nervu sistēmas slimību etiopatogēnēzē.

Lai noteiktu iespējamo saistību starp HHV-6, HHV-7 un GBS, bija salīdzināta vīrusu genoma secību klātbūtne PBL (*peripheral blood leukocytes*) DNS un asins plazmas DNS, kā arī vīrusu specifiskās mRNS transkripcija PBL latentējoši inficētiem pacientiem.

Materiāli un metodes

Pacienti un kontroles grupa. Pētījumā bija iekļauti 30 pacienti (16 vīrieši, 14 sievietes; vidējais vecums 41 gads) ar GBS. Slimība diagnosticēta pēc vispārpieņemtiem *Asbury A. K. un Cornblath D. R.* klīniskajiem kritērijiem [12]. Perifērās nervu sistēmas bojājums visiem tika apstiprināts ar nervu elektriskā impulsa vadāmības izmeklējumiem – neirogrāfiski un elektromiogrāfiski, izmantojot *Keypont* (Dānija) iekārtu. Kontroles grupā bija 150 asins donori (77 sievietes un 73 vīrieši; vidējais vecums 37 gadi) [4]. Pētījumi bija veikti ar AML/RSU Ētikas komisijas atļauju, un visi pētījuma dalībnieki bija devuši piekrišanu izmeklējumiem.

Metodes. DNS izolēja no PBL ar fenola, hlороforma metodi un no asins plazmas ar *QIAamp Blood Kit* (*Qiagen GmbH*, Vācija) palīdzību. Izdalītās DNS kvalitāti pārbaudīja, izmantojot β-globīna PCR [5]. Lai noteiktu HHV-6 un HHV-7 genoma sekvenču klātbūtni PBL DNA un asins plazmas DNA, izmantoja polimerāzes ķēdes reakciju ar iekšējo praimēšanu – *nested PCR* (nPCR). HHV-6 DNS detekciju veica, kā aprakstīts *Bandobashi et al.* [6], lietojot praimerus, kas ir komplementāri kapsīda

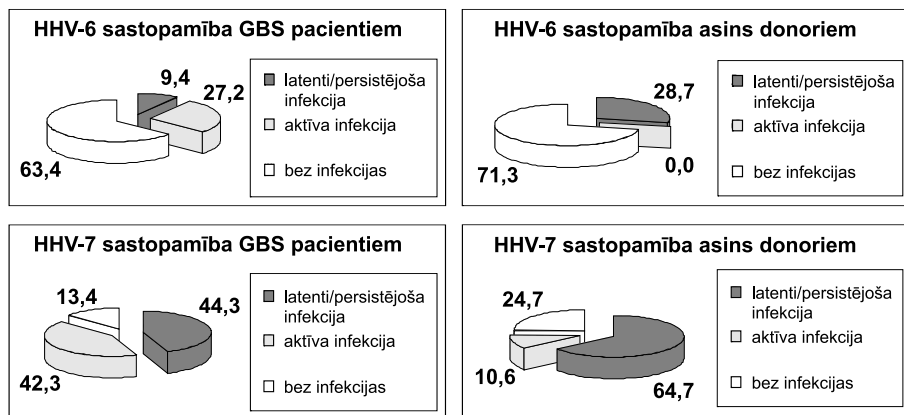
galvenos proteīnus kodējošam gēnam un kas atpazīst abus vīrusa variantus (A un B). HHV-7 detekciju veica, kā aprakstīts *Berneman et al.* [7], ar praimeru komplektu, kas ir komplementāri U10 gēnam. PCR produktus vizualizēja un analizēja ar *Kodak Electrophoresis Documentation and Analysis System (EDAS) 290, ASV*. Papildus izmantoja arī reversās transkriptāzes polimerāzes ķēdes reakciju (RT-PCR), lai noteiktu HHV-6 un HHV-7 mRNS transkripciju, izmantojot *MBI Fermentas* (Lietuva) reaģentus.

HHV-6 un HHV-7 infekcijas izplatības statistiskās atšķirības starp izmeklētajām grupām noteica, izmantojot *Fisher's Exact* testu, un rezultāts tika uzskatīts par ticamu, ja $p \leq 0,05$.

Rezultāti

Lietojot nPCR, bija noteikta vīrusu genoma secību klātbūtne DNS, kas izdalīta no PBL un plazmas pacientiem ar GBS un arī asins donoriem, kurus izmantoja kā kontroles grupu. HHV-6 genoma sekvenci atrada 11 (36,6%), savukārt HHV-7 genoma sekvenci – 26 no 30 (86,6%) GBS slimnieku DNA, kas izolēts no PBL. Tas liecina par latenti persistējošu vīrusu infekciju. HHV-6 latenti persistējošu infekciju konstatēja 43 (28,7%) un HHV-7 – 113 (75,3%) asins donoriem. Statistiski ticama atšķirība latenti persistējošas vīrusu infekcijas biežuma ziņā starp izmeklētajām grupām netika novērota.

HHV-6 genoma secību klātbūtni asins plazmas DNS, kas liecina par aktīvu vīrusu infekciju, konstatēja 3/11 (27,2%), savukārt HHV-7 genoma secības asins plazmas DNS – 11/26 (42,3%) pacientiem. Attiecīgi asins donoriem aktīvu HHV-6 infekciju neatrada 0/43 ($p < 0,05$), bet HHV-7 aktīvu infekciju konstatēja 12/113 (10,6%; $p < 0,05$) indivīdiem (sk. 1. att.).



1. att. HHV-6 un HHV-7 latenti persistējošas un aktīvas infekcijas sastopamība GBS pacientiem un asins donoriem (%)

Lai pārliecinātos, vai nenotiek agrīna vīrusa aktivācija tajos latentās infekcijas gadījumos, kur vīruss netiek konstatēts asins plazmā, no GBS slimnieku PBL paraugiem bija izolēta RNS un ar RT-PCR palīdzību noteikta HHV-6 un HHV-7 specifiskās mRNS transkripcija. Nevienā no paraugiem vīrusa mRNS transkripciju nekonstatēja. Tas apstiprina, ka vīruss patiešām ir latentā stāvoklī.

Diskusija

Iegūtie rezultāti parādīja, ka GBS slimniekiem biežāk novēro HHV-7 nekā HHV-6 aktivāciju. Tas ir interesants fakts, jo līdz šim citas pētnieku grupas ir pievērsušas uzmanību tikai HHV-6 un CMV infekcijas iespējamai nozīmei GBS etiopatogēnēzē. Arī par šo vīrusu saistību ar slimības izcelsmi un gaitu ir pretrunīgi viedokļi. Ir darbi, kuros teikts, ka HHV-6 varētu būt saistīts ar GBS [10], taču ir arī tādi rezultāti, kas noliedz jebkādu HHV-6 saistību ar šo slimību [11].

Gan mūsu veiktie pētījumi, gan arī citās valstīs iegūtie pētījumu rezultāti parāda HHV-6 asociāciju ar centrālās nervu sistēmas iekaisīgu demielinizējošu slimību – multiplo sklerozi (MS) [12]. Ir parādīta ne tikai HHV-6 asociācija ar MS, bet arī HHV-6 aktivācijas saistība ar slimības aktīvo fāzi. Šie rezultāti ļauj domāt, ka HHV-6 ir būtiska nozīme demielinizējošu procesu attīstībā, taču, ņemot vērā HHV-6 un HHV-7 lielo ģenētisko līdzību un to, ka abi šie vīrusi spēj replicēties viena tipa šūnās, t. i., CD34+ šūnās, nevar izslēgt arī HHV-7 saistību ar autoimūnu un demielinizējošu procesu. Par to liecina arī šajā darbā iegūtie rezultāti, kas parāda, ka akūtas iekaisīgas demielinizējošas perifērās nervu sistēmas slimības – GBS – gadījumā biežāk aktivējas tieši HHV-7. Rodas jautājums, kāpēc CNS demielinizējošos procesos vairāk iesaistīts ir HHV-6, bet PNS demielinizējošos procesos – HHV-7, ņemot vērā, ka abas (MS un GBS) ir autoimūnas slimības. Lai rastu atbildi uz šo jautājumu, izmeklētie pacienti būtu jāpārbauda atkārtoti dinamiskā, lai novērtētu vīrusu savstarpējo mijiedarbību, jo zināms, ka vispirms aktivējas HHV-7 un pēc tam HHV-6 un CMV. Varbūt tieši tāpēc GBS gadījumā biežāk ir diagnosticēta tieši HHV-7 aktivācija, atkārtotos izmeklējumos ir varbūtēja iespēja diagnosticēt arī HHV-6 aktīvu infekciju, taču šī tēze jāpārbauda, kaut gan klīniski PNS demielinizējošas slimības transformāciju CNS demielinizējošā procesā novēro reti. Ja aplūko MS un HHV-6 mijiedarbību, var rasties jautājums, kāpēc šeit aktīva HHV-7 infekcija tiek novērota retāk nekā aktīva HHV-6 infekcija. Jāatzīst, ka MS slimnieku vidū ir tādi gadījumi, kad konstatē HHV-6 un HHV-7 vienlaicīgu aktivāciju. Tas parāda, ka arī CNS demielinizējošos procesos ir iesaistīts HHV-7. Ņemot vērā MS slimības norises īpatnības – tās atkārtotos paasinājumus jeb relapses, ļoti iespējams, ka vīrusu savstarpējās mijiedarbības mehānismi ir izmainīti un GBS gadījumā tie atšķiras. Diskutējams arī jautājums par akūtas demielinizējošas PNS saslimšanas – GBS – pāreju tālākā hroniskā iekaisīgā polineuropātijā un cilvēka herpētisko vīrusu (HHV-6 un HHV-7) savstarpējo mijiedarbību.

Apkopojot iegūtos rezultātus, var secināt, ka HHV-7 un HHV-6 ir zināma nozīme GBS etiopatogēnēzē, taču, lai pilnībā izprastu vīrusu un slimības mijiedarbību, ir jāturpina iesāktie pētījumi, jo GBS ir neiromuskulāras šļauganas paralīzes biežākais cēlonis. Apmēram ¼ daļai slimnieku tas rada ievērojamas sekas, invaliditāti, un 9% gadījumu slimība beidzas nelabvēlīgi.

LITERATŪRA

1. Linda L., Sulton R. N. *Meeting the Challenge of Guillain-Barre Syndrome. Nursing Management*, 2002, 33(7), pp. 25–30.
2. *NAID Workshop, Development of Guillain Barre Syndrome Following Campylobacter Infection*. Natcher Conference Center, NIH Bethesda, MD, USA August 26–27, 1996.
3. <http://www.pubmed>, Guillain-Barre Syndrome, 2003.

4. Kozireva S., Nemceva G., Danilāne I., Pavlova O., Blomberga J., Murovska M. *Prevalence of Blood-Borne Viral Infections (Cytomegalovirus, Human Herpesvirus-6, Human Herpesvirus-7, Human Herpesvirus-8, Human T-Cell Lymphotropic Virus-I/II, Human Retrovirus-5) Among Blood Donors in Latvia*. *Ann Hematol.*, 2001, 80, pp. 669–673.
5. Vandamme A. M., Fransen K., Debaisieux I., et al. *Standardization of Primers and an Algorithm for HIV-1 Diagnostic PCR Evaluated in Patients Harboring Strains of Diverse Geographical Origin*. *J. Virol. Methods*, 1995, 51, pp. 305–316.
6. Bandobashi K., Diabata M., Kamioka M., et al. *Human Herpesvirus 6 (HHV-6)-Positive Burkitt's Lymphoma: Establishment of a Novel Cell Line Infected with HHV-6*. *Blood*, 1997, 90, pp. 1200–1207.
7. Berneman Z. N., Ablashi D. V., Li G., et al. *Human Herpesvirus 7 is a T-Lymphotropic Virus and is Related to, but Significantly Different from, Human Herpesvirus 6 and Human Cytomegalovirus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 89, pp. 10552–10556.
8. Boutolleau D., Fernandez C., Andre E., et al. *Human Herpesvirus (HHV)-6 and HHV-7: Two Closely Related Viruses with Different Infection Profiles in Stem Cell Transplantation Recipients*. *J. of Infectious Diseases*, 2003, 187, pp. 179–189.
9. Mirandola P., Sechiero P., Pierpaoli S., et al. *Infection of CD34⁺ Hematopoietic Progenitor Cells by Human Herpesvirus 7 (HHV-7)*. *Blood*, 2000, 96, pp. 126–131.
10. Merelli E., Sola P., Faglioni P., et al. *Newest Human Herpesvirus (HHV-6) in the Guillain-Barre Syndrome and Other Neurological Diseases*. *Acta Neurol. Scand.*, 1992, 85(5), pp. 334–336.
11. Wilborn F., Schmidt C. A., Brinkmann V., et al. *A Potential Role for Human Herpesvirus Type 6 in Nervous System Disease*. *J. Neuroimmunol.*, 1994, 49 (1–2), pp. 213–214.
12. Asbury A. K., Cornblath D. R. (1990). *Assessment of Current Diagnostic Criteria for Guillain-Barre Syndrome*. *Ann Neurol* 27 (Suppl.): S21–24.
13. Chapenko S., Millers A., Nora Z., Logina I., Kukaine R., Murovska M. *Correlation Between HHV-6 Reactivation and Multiple Sclerosis Disease Activity*. *J. Med. Virol.*, 2003, 69(1), pp. 111–117.

Summary

Background: There are many uncertainties concerning the etiological and other factors determining the clinical course of chronic inflammatory and autoimmune diseases. Viral infections can be one of them responsible for the onset and sustaining of these processes. During the last few years much attention had been paid to the beta-herpesviruses demonstrating that they are involved in the development of inflammatory and autoimmune diseases of CNS and PNS. Very little is known about these viruses in clinical manifestation of Guillain-Barre Syndrome (GBS) -an acute inflammatory demyelinating polyneuropathy, the etiology and pathogenesis of which is still incompletely understood.

Aim: To evaluate the implication of human β -herpesviruses HHV-6, HHV-7 in acute inflammatory processes in patients with GBS.

Patients and methods: 30 patients (16 men, 14 women; mean age 41 years) who fulfilled the diagnostic criteria for GBS and 150 blood donors (73 men, 77 women; mean age 37 years) as a control group were included in this observation.

Latent/persistent and active HHV-6 and HHV-7 infections were detected by nested PCR using PBL and plasma DNA as the templates, respectively. Presence of viral mRNA in PBL was examined by RT-PCR.

Results: PBL DNA of 11 (36.6%) patients showed the presence of HHV-6 genomic sequence and DNA of 26 (86.6%) patients the presence of HHV-7 genomic sequence. No statistic difference between the incidence of latent/persistent HHV-6 and HHV-7 infections in patients with GBS and control group was found. The presence of HHV-6 genomic DNA in plasma was shown in 3/11 (27.2%) patients (vs. 0/43 in blood donors, $p<0.05$), HHV-7 genomic sequence in plasma DNA – in 11/26 (42.3%) patients (vs. 12/113; 10.6% in blood donors, $p<0.05$). Conclusions: The correlation between HHV-6 and HHV-7 activation and GBS has been shown. An implication of all beta-herpesviruses in GBS pathogenesis could not be excluded.

Tuvredzības izplatība – vide vai iedzimtība? Myopia Explodes: Is it Acquired or Inherited?

Roberts Paeglis¹, Anda Balgalve¹, Nikolajs Sjakste²

¹ Latvijas Universitātes
Fizikas un matemātikas fakultāte, Optometrijas un redzes zinātnes nodaļa
Ķengaraga iela 8, Rīga, LV-1063
E-pasts: Roberts.Paeglis@lu.lv

² Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: Nikolajs.Sjakste@lu.lv

Miopijas straujā izplatība attīstītajās valstīs, kā arī acu patoloģiju risks, kas saistīts ar augstas pakāpes tuvredzību, ir pamudinājuši pētīt redzes orgāna attīstību gan ar farmakoloģiskām un morfoloģiskām metodēm, gan arī pārbaudot ģimeņu redzi un dzīvnieku modeļu redzi. Lai gan ir pierādīts, ka tuvredzības gadījumā acis noris aktīvas bioķīmiskas un biomehāniskas pārmaiņas, tomēr tuvredzības fizioloģisko mehānismu izpratnei un terapijai ir nepieciešami molekulārās ģenētikas pētījumi un „tuvredzības gēna” meklējumi.

Savā pētījumā esam aprobežjuši cilvēka DNS neinvazīvu izdalīšanu no vaigu epitēlija ar mutes skalošanu. Tika pārbaudīta hipotēze par tuvredzības (dioptrijās) saistību ar 2 izplatītākajiem SNP 40 DNS paraugos, kurus ieguva gēnā PSMA6. Pētījumā netika atrasts apstiprinājums tam, ka tuvredzība ir saistīta ar proteīnu metabolismu proteosomās ($\chi^2=0.877$, $p=0.831$). Netika atrasta arī korelācija starp tuvredzības pakāpi un laiku, kas veltīts miegam, lasīšanai vai darbam ar datoru. Rezultāti liecina, ka ir jāmeklē citi ģenētiskie faktori, kas ietekmē tuvredzības attīstību, kā arī citi provocējošie vides faktori.

Atslēgvārdi: miopija, refraktīvie defekti, acs augšana, DNS izdalīšana, PSMA6.

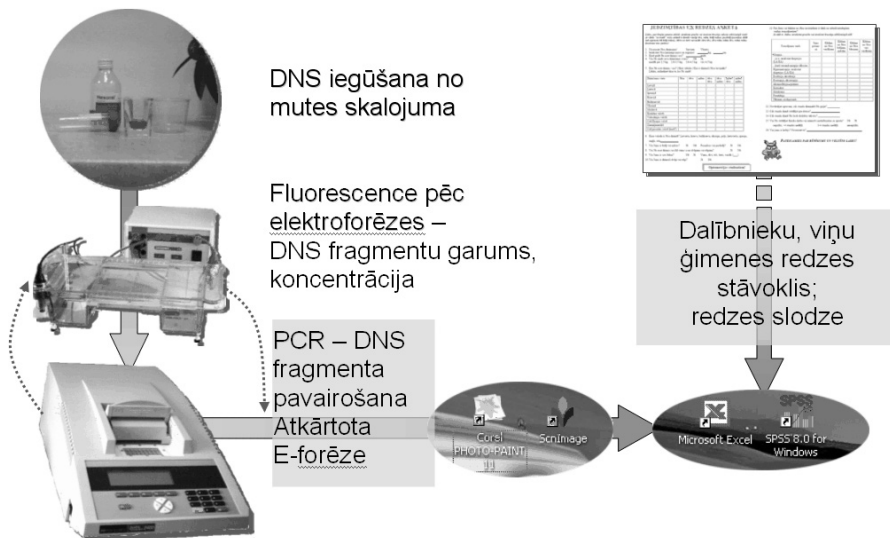
Key words: nearsightedness, refractive defects, ocular growth, DNA extraction, PSMA6.

Ievads

Tuvredzība jeb miopija tiek konstatēta ceturtdaļai Eiropas, ASV un Austrālijas iedzīvotāju. Āzijas valstīs, piemēram, Ķīnā, Singapūrā un Taivānā, tuvredzība kļūst par dominējošo redzes stāvokli [1] un tā skar līdz pat 80% skolas absolventu [2]. Turklāt tuvredzības epidēmija Āzijā, domājams, nav saistīta ar rakstības sistēmu – tās izplatība valstīs ar hieroglifisko un alfabētisko rakstību pieaug vienlīdz strauji [1, 2]. Miopija tiek asociēta ar izglītības intensitāti, jo daudzās populācijās, to skaitā arī eskimosu kopienās, tuvredzīgo skaits pieaug līdz ar izglītības līmeni.

Šajā rakstā tiek sniegts pārskats [3] par tuvredzības etioloģiju atbilstoši mūsdienu zināšanām. Miopijas pētījumos plaši izmanto dzīvnieku modeļus [4]. Jaunus ieskatus gūst arī cilvēka cīpslenes morfoloģiskajos un bioķīmiskajos pētījumos *post mortem* [5, 6]. Pasaulē aktuāls jautājums ir „tuvredzības gēnu” meklējumi. Ja izdotos atklāt gēnu variantus, kuri korelē ar tuvredzības attīstību, varētu spriest par tuvredzības

ģenēzes mehānismiem un meklēt preventīvas terapijas iespējas. Savā pētījumā pārbaudījām, vai miopija korelē ar nukleotīdu aizvietojumiem ģenā PSMA6, kam ir apliecināta saistība ar metaboliskām un autoimūnām saslimšanām [7, 8, 9]. Pētījuma shēma iekļauta 1. attēlā.



1. att. Tuvredzības pētījuma shēma. Tiek iegūti dati par dalībnieku redzes refraktīvo stāvokli un pārbaudīti pētāmā gēna varianti

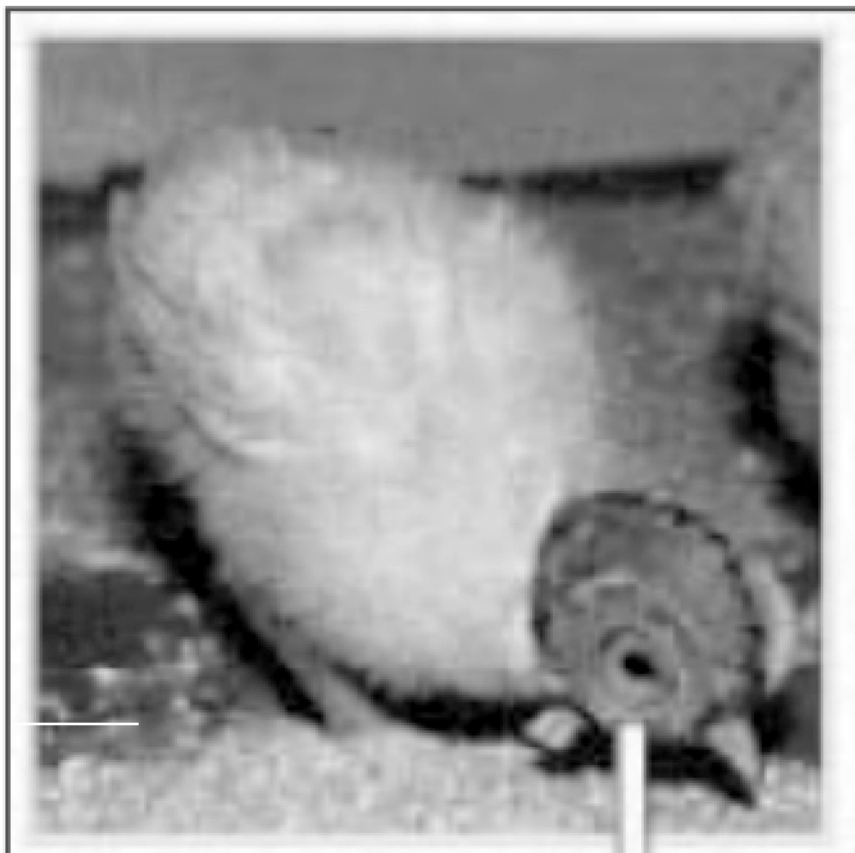
Ar tuvredzību saistītais risks

Miopijas pētījumi noris daudz intensīvāk nekā hipermetropijas (tālredzības) izpēte. Pirmkārt, tālredzības noteiktie redzes traucējumi un astenopija vidēji izpaužas vēlāk nekā tuvredzības nosacītie redzes un dzīves stila ierobežojumi. Otrkārt, tuvredzība nozīmē lielāku acu slimību risku. Ir novērota augstas pakāpes tuvredzības korelācija ar tīklenes atslāņošanās un plīsumiem, kā arī ar glaukomu. Tīklenes atslāņošanās risks personām ar augstas pakāpes tuvredzību ir 30...50% [10]. Individīdiem, kuru tuvredzība sasniedz vismaz -10,00 D, tīklenes atslāņošanās un plīsumi ir 330 reizes biežāki nekā personām ar tālredzību vai ar zemākas pakāpes tuvredzību. Ir novērota kataraktas un mazāku acs lēcas apduļķojumu saikne ar augstas pakāpes tuvredzību [10, 11]. Miopiem indivīdiem ir arī salīdzinoši lielāks glaukomas attīstības risks, turklāt redzes zudums sākas pie mazāka acs iekšējā spiediena. Šo iemeslu dēļ tuvredzība ir viens no galvenajiem akluma cēloņiem attīstītajās pasaules valstīs [12]. Patoloģiskās pārmaiņas, kas ir saistītas ar augstas pakāpes tuvredzību, pieņemts skaidrot ar stresu, kuru tīklenē un cīpslēnē rada biomehāniskie stiepes spēki [12, 13].

Vides faktoru nozīme miopijas attīstībā nav noliedzama, tomēr līdzīga redzes piepūle vienam indivīdam var izraisīt strauju miopizāciju, savukārt citam neradīt nekādas paliekošas redzes izmaiņas. Tāpat kā citu multifaktoriālu slimību un traucējumu – diabēta, astmas, audzēju, KSS un garīgo slimību – gadījumā, ģenētisko faktoru ietekmi ir grūti atklāt, jo katra faktora ietekme ir relatīvi neliela un to modifīcē

gēni, kas ar slimību nav saistīti [14]. Pētnieks D. Goss (*Goss*) pieļauj domu [15], ka **iedzimst drīzāk noturība pret vides stresoriem**, nevis kāds noteikts redzes stāvoklis (defekts). Tas ir apliecināts ar vairākām metodēm, piemēram, ar dvīņu redzes stāvokļa pētījumiem vai paaudžu pētījumiem [16]. Turklāt iedzimtībai un videi var būt dažāda nozīme atšķirīgās populācijās. Tiek uzskatīts, ka Āzijas iedzīvotājiem redzes refraktīvos defektus rada galvenokārt intensīva redzes sistēmas piepūle (biroja darbs, mācības, arī drūzmēšanās pārāpdzīvotās vietās). Tomēr Eiropas, Ziemeļamerikas un Austrālijas populācijā iedzimtībai, domājams, ir izšķirošā ietekme [12, 17]. Augstas pakāpes patoloģiska tuvredzība var attīstīties gan no ģenētiskajiem faktoriem, kā tas ir dominantās tuvredzības gadījumā, gan arī vienīgi no vides faktoriem – apduļķojumiem un asinsizplūdumiem acīs. Tuvredzība biežāk ir sastopama bērniem, kuriem vismaz viens no vecākiem ir ar augstu tuvredzības pakāpi. Tādos gadījumos tuvredzība mēdz atklāties pēcnācējos pēc klasiskajiem Mendeļa likumiem [11]. Mazākas pakāpes (nepārsniedz -6,00 dioptrijas) miopija ir multifaktoriāla, poligēna parādība [18].

Dzīvnieku modeļi redzes pētījumos



2. att. Eksperimenta dzīvniekiem, piemēram, cāļiem, inducē tuvredzību, novietojot pirms acīm optisku šķērslī vai uzliekot plakstu šuvi [4]

Tuvredzību ir iespējams inducēt dažādām dzīvnieku sugām, piemēram, cāļiem, ciršļiem, primātiem. Dzīvnieku redzes modeļi ļauj ierobežot ģenētisko variāciju (eksperimentālās šķirnes), kā arī kontrolēt vides faktoros [19]. Jaundzimušam dzīvniekam plakstu šuve vai optisks redzes apmiglojums (analoģiski jaundzimušo bērnu plakstu ptozei) inducē augstas pakāpes tuvredzību [11]. Arī negatīvas lēcas stimulē acs aksiālo augšanu, t. i., tuvredzības veidošanos (sk. 2. att.). Pozitīvas lēcas parasti kavē acs augšanu un provocē tālredzību. Eksperimentu sērijas ar dzīvnieka redzes trakta sekciju ir ļāvušas secināt, ka acī attēla defokusācijas noteikšana noris lokāli – tīklenes līmenī [14, 22]. Tīklene spēj atšķirt hipermetropisko un miopisko defokusāciju (vai attēls tiek projicēts aiz tīklenes vai pirms tās) un tādā veidā nodrošina atgriezenisko saiti acs augšanai. Tāpēc ir pamats vaicāt, vai pilnīga tuvredzības korekcija un hiperkorekcija bērniem faktiski neizraisa tuvredzības progresēšanu. Tomēr starp dzīvnieku un cilvēku redzi ir būtiska atšķirība, jo redzes stresa pārtraukšana reizi diennaktī dzīvniekiem veicina redzes normalizāciju, savukārt bērniem tuvredzība var progresēt par spīti regulārai atslodzei [18].

Slēptā šķielēšana un akomodācija

Viens no faktoriem, kas tiek asociēts ar tuvredzību, ir *ezoforija* jeb konvergējošā slēptā šķielēšana. Ar tuvredzības pakāpi (dioptrijās) izteikti korelē liela ezoforija (>6 prizmatiskajām dioptrijām), ja tā konstatējama, personai vēršot skatu lasīšanas attālumā. Novērots, ka ezoforija, bērnam skatoties tuvumā, ir varbūtīgs tuvredzības priekšvēstnesis. Tuvredzības terapija ar bifokālajām lēcām tiek skaidrota ar šīs ezoforijas kompensāciju, ko rada papildu lēcas [12, 20]. Iespējams arī, ka ezoforija korelē ar tuvredzību kā akomodācijas atbildes nepietiekamības simptoms. Tas nozīmē, ka acs ciliārā muskuļa nepietiekama efektivitāte rada lielāku tendenci savērst acis. Akomodācijas aiztures dēļ uz tīklenes neveidojas skaidrs attēls, tas savukārt izraisa paātrinātu acs augšanu [20]. Tuvredzības eksperti brīdina par to, ka ir nepieciešams apzināt ne vien tuvredzīgu bērnu un viņu vecāku ģenētisko līdzību, bet arī dzīves stila līdzību vai atšķirību. Izteiktu korelāciju (līdz pat 60%) starp bērnu un vecāku tuvredzību varētu noteikt ne vien pārmantotās alēles, bet arī pārņemtais dzīvesveids. Tomēr līdz šim nav atrasti pietiekami pierādījumi tam, ka tuvredzīgi vecāki „ieaudzina” bērniem dzīves stilu, kas veicina tuvredzību [17].

Pasīvs process vai aktīvas pārmaiņas?

Vairums tuvredzības pētnieku mūsdienās ir vienās domās, ka, tuvredzībai attīstoties, cīpslene izstiepjas un kļūst plānāka, tomēr tas nav pasīvs, biomehānisko spēku determinēts process. Cīpslenes deformācija notiek modificētu bioķīmisko procesu un to izraisītās audu morfoloģiskas pārveidošanās dēļ [12]. Savā pētījumā R. Volkolakova pauž uzskatu, ka tuvredzīgajās acīs ir vērojamas izmaiņas vairākos līmeņos. Audu līmenī ir sastopamas kolagēna arhitektūras izmaiņas. Kolagēna kūlīšu līmenī noris disociācija un sairšana. Atsevišķu šķiedru līmenī redzama to dezintegrācija un šķiedru formas izmaiņas [5]. Cīpsleni veido saistaudu slānis, kurš kļūst plānāks, attīstoties tuvredzībai. To skaidro ar samazinātu vai izmainītu kolagēna, glikozaminoglikānu sintēzi un sulfātjonu kūtrāku piesaistīšanos proteoglikāniem. Šīs vielas vada kolagēnšķiedru izvietojumu, sekmē audu hidratāciju un nodrošina aizsargaudu biomehāniskās īpašības. Starp cīpslenes kolagēnšķiedrām atrodas

cīpslenes fibroblasti, kas sintezē un pārveido starpšūnu vielu [10]. Tuvredzīgās acīs cīpslene kļūst plānāka, jo ir izmainīta kolagēnšķiedru mikroskopiskā struktūra, maza diametra šķiedru kļūst vairāk [5]. Turklāt mainās arī kolagēnšķiedru izkārtojums, tas kļūst regulārs, līdzīgi kā acs radzenē. Analizējot mRNS daudzumu tuvredzīgajā un kontroles acī, sešiem dzīvniekiem konstatēts I tipa kolagēna sintēzes kritums. Tāpat plānāku cīpsleni tuvredzīgajās acīs nosaka, pirmkārt, kolagēna lēnāka veidošana un, otrkārt, paātrināta tā noārdīšana. Cits process, kurš noris miopizācijas gaitā, ir kolagēna tipu proporciju maiņa. Tas pēc laika rada mikroskopiski novērojamas izmaiņas šķiedru uzbūvē (forma, diametrs). Kolagēna aprites pētījumi motivē meklēt pirmās molekulārās izmaiņas tuvredzības attīstības gaitā *pirms klīniskajiem simptomiem* un perspektīvā izmantot to preventīvai terapijai [12, 13].

Dopamīna daudzuma samazināšanās ir viens no pirmajiem tuvredzības bioķīmisko pamatu novērojumiem. Tomēr nav informācijas par to, vai dopamīna līmenis vienmēr korelē ar acs garuma izmaiņām [19]. **Retīnskābes** daudzums inducētās tuvredzības gadījumā mainās kā cīpslenē, tā arī dzīslenē. Retīnskābe kavē cīpslenes glikozaminoglikānu (GAG) sintēzi. Glikozaminoglikāni, tāpat kā citi glikāni, ir polisaharīdi, kuri veido starpšūnu vielu (matriksu) [10, 13]. **Kristalīni** ir pazīstami kā acs lēcas proteīni, kuri, regulāri izvietoti, rada caurspīdīgu vidi. Citviet organismā tie, tāpat kā citi karstuma šoka proteīni, regulē gēnu ekspresiju. To daudzums tīklenē mainās optiskā kairinājuma ietekmē, tomēr izmaiņu cēlonis līdz šim nav dokumentēts [19]. Ar tuvredzības attīstību var būt saistīts arī **slāpekļa monoksīds** (NO). Tiek ziņots [19], ka kropļota attēla vai negatīvo lēcu inducēto tuvredzību var novērst, ja inhibē slāpekļa oksīda sintāzes (NOS). Negaidīts skaidrojums saista miopiju ar augšanas faktoriem un diētu. Pētnieki ir novērojuši, ka **tuvredzība izplatās, ja uzturā lieto produktus, kuros ir daudz cukura**. Diēta, kura palielina insulīna toleranci, izmaina IGF un IGF saistošā proteīna koncentrāciju. Tie savukārt mijiedarbojas ar retīnskābes receptoriem, ietekmējot acs augšanu [19].

V. Cui līdzautoru kolektīvs [6] ir izmantojuši mikročipu metodi, lai novērtētu pārmaiņas tuvredzīgas acs cīpslenē. Viņi ir apliecinājuši, ka mehāniska iedarbība uz cilvēka cīpslenes audu kultūru ietekmē gēnu ekspresiju. Pēc 30 minūšu ilgas stiepes deformācijas cīpslenes audos tika novērotas statistiski nozīmīgas izmaiņas 237 gēnu ekspresijā, tai skaitā sākās 28 jaunu gēnu ekspresija, toties 31 ekspresētais gēns tika apklusināts. 25 gēnu ekspresija mainījās vairāk nekā trīs reizes. Starp šiem gēniem bija vairāki šūnu receptori, proteīnkināzes, augšanas un dalīšanās faktori, starpšūnu vielas proteīni, lipīdu un proteīnu metabolisma, kā arī transkripcijas faktori un ūdens kanālu proteīni. Pēc 24 stundas ilga iestiepuma atšķirīgi tika ekspresēti 308 gēni. No tiem 21 gēna ekspresija tika mainīta vismaz trīs reizes. Vairāki no šiem gēniem kodēja šūnu receptorus, proteīnkināzes, augšanas faktorus, transkripcijas faktorus, tauku un arī ogļhidrātu metabolisma fermentus, starpšūnu vielas komponentus [6].

Tuvredzības molekulārā izpēte var atklāt, kā aizkavēt tuvredzības izplatību. Uzdevums ir saprast, kādi gēni ir iesaistīti, izmaiņas to ekspresijā, novirzes to produktos, kas tieši sekmē tuvredzību vai arī netieši palielina tuvredzības attīstības risku ārējo faktoru ietekmē. Tas palīdzētu izveidot etiotropu redzes refraktīvo defektu terapiju, kā arī izskaidrot pašreiz izmēģināto farmakoloģisko aģentu darbības mehānismus, kas nav izprasti. Iespējams, *pirenzepīns* kavē tuvredzību nevis kā muskarīna tipa holīnērgisko receptoru blokators, bet citā, nepilnīgi apzinātā veidā.

Tā kā nav pietiekami izpētītas *atropīna* ilgstošas iedarbības sekas, eksperti neiesaka *atropīna* terapiju bērniem ar tuvredzības attīstības risku [12].

Tabula

Normālas acs cīpslenes audu kultūrā intensīvi ekspresētie gēni [21]

Biežāk sastopamie starpšūnu vielas gēni			
humanāns (HN1)	lamināns β (LAMB1)	sindekāns-1 (SDC1)	dekorāns (DCN)
fēritīns (FTL)	kolagēns (X tips α1, COL10A1)	transgelīns (TAGLN)	aktīns β (ACTB)
apolipoproteīns D (APOD)	kristalīns αA (CRYAA)	fibulīns-1 (FBLN1)	fibromodulīns (FMOD)
citohroma C oksidāze (II tips, MTCO2)	integrīns β5 (ITB5)	aktīns α1 (ACTN1)	metālproteināzes-1 inhibitors (TIMP1)
kristalīns (αA tips, CRYAA)	vimentīns (VIM)	fibulīna-1 D izoformas priekštecis	proteīns (PRELP), kas satur daudz prolīna-arginīna un leicīna
kolagēns (X α1 tips, COL10A1)	cilvēka biglikāns (BGN)	šūnas skeleta proteīns (MGLAP)	

Ar tuvredzību saistītie gēnu varianti

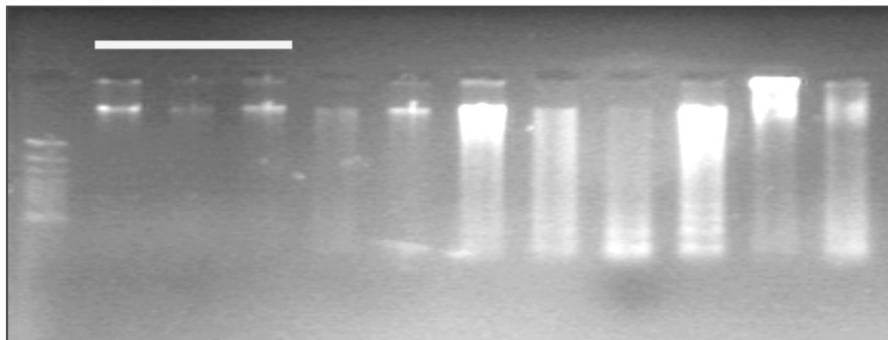
Ir noskaidroti **pieci hromosomu apgabali**, kuri ir asociēti ar augstas pakāpes tuvredzību bez vispārējas organisma slimības. Tie ir gēni MYP1 lokusā Xq28, MYP2 lokusā 18p11.31, MYP3 – 12q23.1–24, kā arī lokusi 17q21–22 un 7q36. Šajos ģenētiskajos apgabalos ir nosaukti dažī potenciālie „patoloģiskās tuvredzības gēni”. Viens no tiem ir biglikāna gēns lokusā MYP1. Tā kā šis gēns atrodas uz cilvēka X hromosomas, ar tā defektiem var skaidrot cīpslenes biomehānikas traucējumus vīriešu acīs. Otrajā lokusā (MYP2) atrodas gēns LAMA, kurš atbild par glikoproteīnu *laminīnu*, kas ietilpst cīpslenes struktūrā un tādējādi var izrādīties svarīgs acs augšanas komponents. Laminīns ir atrasts arī citviet organismā, piemēram, asinsvadu endotēlija membrānās. Trešais patoloģiskās tuvredzības kandidāts ir gēns, kurš kodē miozīna 2 regulatoro ķēdi. Tas atrodas lokusā MYP3 un, iespējams, var veicināt tuvredzību ar izmainītām biomehāniskām ietekmēm uz cīpsleni, kas pati pēc struktūras ir normāla.

Lokusā 17q21-22 (TOB I) atrodas gēns, kas kodē keratīnu, tomēr komentāri par tā iedarbības mehānismi tuvredzības ģenēzē pašlaik netiek paskaidroti. Kā atgādina T. Jangs un viņa kolēģi, katrā cilvēka šūnā tiek ekspresēti no 10 līdz 20 tūkstošiem gēnu, un vienā pētījumā tiek noteikti vienīgi 1–2% no sagaidāmajiem ekspresijas produktiem, tāpēc „tuvredzības gēnu” saraksts (sk. tab.) nākotnē tiks papildināts [21].

Studentu redzes pētījums

Gēnu variantus iedzimtības pētījumos parasti nosaka, izdalot cilvēka DNS no asinīm un pavairojot izdalītās DNS fragmentus ar polimerāzes ķēdes reakciju. Ja ģenētisko materiālu izdala no asins leikocītiem [22], iegūst relatīvi lielu daudzumu garu DNS fragmentu [23]. Tomēr ne vienmēr iespējams motivēt personu sniegt venozo asiņu paraugu, ja viņa (viņas) vienīgā sūdzība ir stabila tuvredzība vai tālredzība. Epidemioloģiskiem pētījumiem, kā arī ambulatoru pacientu ģenētiskai pārbaudei nesen tika aprobētas vairākas neinvazīvas metodes [24]. Kā atklāts pētījumos ASV, ar mutes dobuma skalošanu no vaigu epitēlija un asociētām šūnām var iegūt tikpat daudz DNS,

cik no 1 ml venozo asiņu [25]. DNS paraugu salīdzinājums redzams 3. attēlā. Šādi iegūtajos DNS paraugos ir sastopams arī bakteriālās DNS piejaukums, bet tas netiek uzskatīts par traucēkli cilvēka un mikroorganismu (prokariotu) DNS atšķirību dēļ. Tiek norādīts, ka zobu tīrīšana pirms mutes skalošanas par 40% samazina arī cilvēka DNS daudzumu, tāpēc nav ieteicams tīrīt zobus no rīta pirms parauga ievākšanas [23, 25]. Neinvazīvā metode ir ērti izmantojama redzes pētījumos – vaigu epitēliju var iegūt acu ārsta vai optometrista kabinetā, kā arī mācību telpās. Piemēram, vaigu epitēlija DNS ir ļāvusi pētniekiem secināt [26], ka ar *patoloģisko tuvredzību saistītie ģenētiskie lokusi nav asociēti ar vidējās vai mazas pakāpes tuvredzību*.

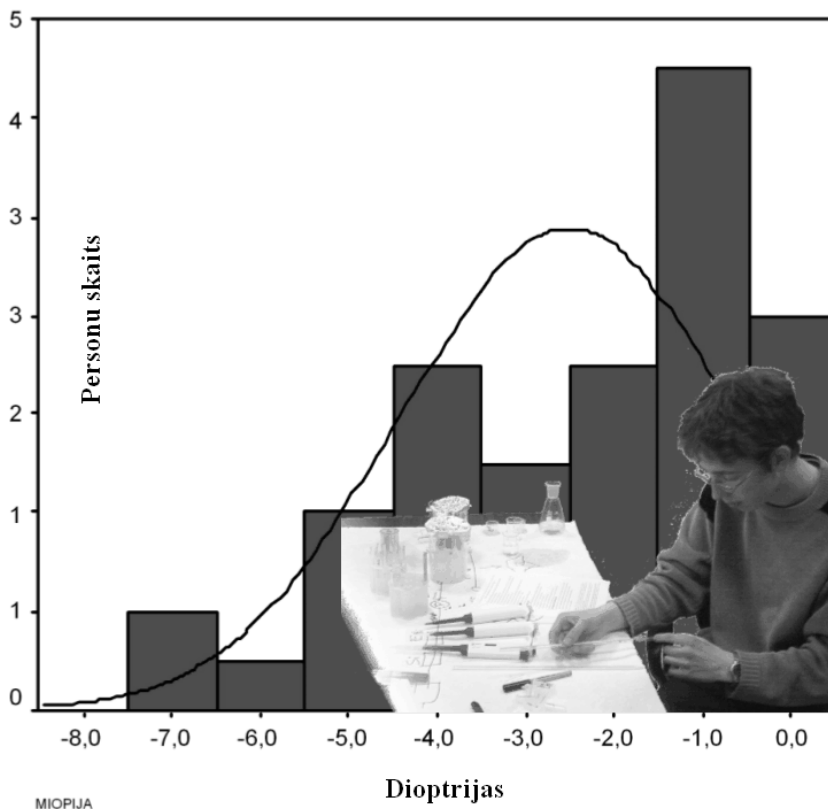


3. att. No asins paraugiem un mutes skalojuma paraugiem iegūtās DNS salīdzinājums (elektroforēzes dati)

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultātes un Optometrijas nodaļas kopējā tuvredzības iedzimtības pētījumā tika modificēta vaigu epitēlijšūnu ievākšana. Medicīniskajā bioķīmijā tika īstenoti arī laboratorijas darbi, kuros studenti izdalīja savu DNS. Salīdzinot ar publicētajiem datiem [25], par optimālu pēc alkohola satura (5,1%) un lietošanas nosacījumiem tika atzīts Latvijā pieejamais šķīdums mutes dobuma un rīkles higiēnai *Hexoral (Pfizer)*. Pētījuma dalībnieki bija studenti, kuru studiju programma bija saistīta ar medicīnu un kuri iesaistījās procesā brīvprātīgi. Pētījums tika apstiprināts ar Zinātniskās ētikas komisijas atļauju (LEKMI). Pētījuma dalībnieki aizpildīja anketas ar jautājumiem par personīgo un ģimenes redzes un kopējo veselības stāvokli, kā arī redzes sistēmas slodzi. Kopumā tika iegūtas 94 derīgas anketas. Pētījuma pirmajā (aprobācijas) etapā ar polimerāzes ķēdes reakciju (PCR) tika amplificēti 23 miopu un 17 citu indivīdu DNS paraugi, amplifikonos tika pārbaudīti izplatītākie nukleotīdu aizvietojumi (SNP) divās pozīcijās [3]. SNP ir relatīvi stabili un sastopami vidēji viens uz 1000 DNS bāzu pāriem, tie ļauj pētīt ģenētisko apgabalu saistību ar patoloģijām bez funkcionālo variantu izdalīšanas [14]. Pētījuma sākotnējā posmā tika pārbaudīta iespējamā miopijas asociācija ar gēnu PSMA6. Šis gēns kodē proteasomu regulatoro α subvienību un tādā veidā ietekmē proteīnu metabolismu organismā. Proteīnu degradācija vai konformācijas maiņa proteasomās ir alternatīvs ceļš lizosomālajai degradācijai [7]. Ir zināms, ka modifikācijas gēnā PSMA6 ir asociētas ar 2. tipa cukura diabētu [8] un Greivsa slimību [9]. Pašlaik tiek noskaidrota tā nozīme citu autoimūno un metabolisko slimību attīstībā.

Tuvredzīgi (labā acs) bija 44% ($\pm 10\%$) no apzinātajiem 2. kursa studentiem ārstniecības profesionālajā, farmācijas un optometrijas bakalaura studiju programmā

(sk. 4. att.). No viņiem 4% ir augstas pakāpes tuvredzība (pārsniedz -6,00 D) [3]. Šajā studentu grupā tuvredzīgo ir mazāk nekā vidēji studentu grupās Eiropā (64%) [16]. No anketām iegūtā miopijas optiskās korekcijas vidējā vērtība labajai acij ir - 2,50 D (standartnovirze 1,92 D). Šāda tuvredzība pieļauj lasīšanu bez akomodācijas piepūles un redzes korekcijas. Iespējams, tas sniedz liecības teorijai, ka tuvredzība vismaz daļēji ir acs pielāgošanās darbam tuvumā [14, 19]. Pretstatā publicētajiem datiem [17] šajā pētījumā nav konstatēts, ka tuvredzīgi bērni biežāk ir tuvredzīgiem vecākiem nekā vecākiem ar citu acs refraktīvo stāvokli ($\chi^2=0,045$, $p=0,997$). Tomēr šo rezultātu ticamībai ir nepieciešams lielāks dalībnieku skaits, vēlams – vairākas ģimenes [3].



4. att. Pētījuma brīvprātīgo dalībnieku redzes refrakcijas sadalījums [3]

Statistiskā datu apstrāde neliecināja, ka nukleotīdu aizvietojums C pret A pozīcijā -110 un nukleotīdu aizvietojums C pret G pozīcijā -8 no pirmā kodētā metionīna gēnā PSMA6 ietekmē tuvredzības pakāpi (Stjudenta t-tests, $p>0,932$). Netika atklāta statistiski nozīmīga atšķirība alēļu sastopamības biežumā tuvredzīgo indivīdu un kontroles grupā ($\chi^2=0,877$, $p=0,831$). Netika novērotas arī alēļu izplatības atšķirības šī darba izlasē un iepriekšējos populācijas pētījumos ($\chi^2=0,025$, $p=0,999$), kas ļāva mums uzskatīt izlasi par reprezentatīvu [3].

No 94 pētījuma dalībnieku anketu datiem nav pamata secināt, ka eksistē nozīmīga korelācija starp tuvredzības lielumu (dioptrijās) un laiku, kas veltīts miegam (Spirmana

ρ tests, $\rho=0,018$), darbam ar datoru (Spīrmana ρ tests, $\rho=0,037$) vai drukātu tekstu lasīšanai (Pīrsona r tests, $r=-0,061$). Tuvredzīgo un kontroles grupā netika novērota statistiski nozīmīga saistība starp tuvredzības pakāpi un laiku, kas pavadīts miegā vai lasot (Mana–Vitnija testā attiecīgi $p=0,500$ un $0,315$). Tuvredzīgie pavada *vairāk laika pie datora* (Mana–Vitnija U tests, $p=0,052$), tomēr tās var būt tuvredzības nosacītās sekas, nevis tās cēlonis. Jāņem vērā, ka pētījuma dalībnieku miopizācijas laikā (pusaudžu vecumā, pirms 5–10 gadiem) datori bija retāk pieejami. Ir pieļaujama arī tuvredzības un nodarbes korelācija ar trešo mainīgo – intelektu kopumā vai atsevišķiem talantiem [3].

Secinājumi

Acs augšana ir delikāts process – tā ir bioķīmiski regulēta saistaudu attīstība, ko ar neparastu precizitāti kontrolē neirālo audu optisks kairinājums. Tuvredzības izpēte un terapija informācijas sabiedrībā kļūst arvien aktuālāka. Tāpēc ir atzinīgi vērtējams Latvijas ārstu un zinātnieku iepriekš paveiktais šajā jomā (piemēram, [5]).

Savā pētījumā esam aprobējuši neinvazīvu metodi tuvredzības ģenētiskajiem pētījumiem populācijā, izmantojot mutes dobuma skalošanu. Šobrīd tiek apvienoti ģenētiskie testi ar redzes objektīvās pārbaudes datiem. Turklāt īpašu vērtību vēlamies vēltīt ģimenēm, kurās lielas pakāpes tuvredzība ir konstatēta vairākās paaudzēs.

Neskaidras etioloģijas traucējumu gadījumā negatīvi rezultāti ir informatīvi un ekonomiski nepieciešami. Ja turpmākajos pētījumos tiks apstiprināts, ka tuvredzība nav saistīta ar proteasomu darbību šūnā, tiks atsijāti mazticamie miopizācijas mehānismi un ietaupītas darba stundas un līdzekļi citu tuvredzības attīstības ceļu meklējumiem.

Pateicība

Darba autori ir pateicīgi profesoram Indriķim Muižniekam par vērtīgo diskusiju. Pētījums top ar **Eiropas Sociālā fonda** atbalstu.

LITERATŪRA

1. Grosvenor T. *Why is there an Epidemic of Myopia?* Guest Editorial. – Clin. Exp. Optom., 2003, Vol. 86, No. 5, pp. 273–275.
2. Saw S.-M. *A Synopsis of the Prevalence Rates and Environmental Risk Factors for Myopia.* Guest Editorial. – Clin. Exp. Optom., 2003, Vol. 86, No. 5, pp. 289–294.
3. Paeglis R. *Tuvredzības ģenētiskie pētījumi saistībā ar PSMA6 gēnu.* – Maģistra darbs. Latvijas Universitāte, 2004.
4. Schaeffel F., Simon P., Feldkaemper M., Ohngemach S., Williams R. W. *Molecular Biology of Myopia.* – Clin. Exp. Optom., 2003, Vol. 86, No. 5, pp. 295–307.
5. Волколакова Р. Ю. *Структурные, биомеханические и биохимические свойства склеры и их значение в патогенезе прогрессирующей миопии.* – Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. – Рижский Медицинский институт. Рига, 1980.

6. Cui W., Bryant M. R., Sweet P. M., McDonnell P. J. *Changes in Gene Expression in Response to Mechanical Strain in Human Scleral Fibroblasts.* – Exp. Eye Res., 2004, Vol. 78, pp. 275–284.
7. Glickman M. H. *Getting in and out of the Proteasome.* – Cell & Developmental Biology, 2000, Vol. 11, pp. 149–158.
8. Kalis M., Sjakste T., Sjakste N., Luthman H., Groop L. *Association Study between (TG) Repeat Polymorphism in PSMA6 Gene and Type II Diabetes Mellitus in Botnia.* – Biologija, 2003, No. 2, pp. 12–14.
9. Sjakste T., Eglite E., Sochnev A., Marga M., Pirags V., Collan Y., Sjakste N. *Microsatellite Genotyping of Chromosome 14q13.2-14q13 in the Area of Proteasomal PSMA6 Gene on Association with Graves' Disease in the Latvian Population.* – Immunogenetics, in press.
10. McBrien N. A., Lawlor P., Gentle A. *Scleral Remodeling during the Development of and Recovery from Axial Myopia in the Tree Shrew.* – Invest. Ophthalmology & Visual Science, November 2000, Vol. 41., No. 12, pp. 3713–3719.
11. Weiss A. H. *Unilateral High Myopia: Optical Components, Associated Factors, and Visual Outcomes.* – Br. J. Ophthalmol., 2002, Vol. 87, pp. 1025–1031.
12. Choo V. *A Look at Slowing Progression of Myopia.* – The Lancet, May 10, 2000, Vol. 361, pp. 1622–1623.
13. Gentle A., Liu Y., Martin J. E., Conti G. L., McBrien N. A. *Collagen Gene Expression and the Altered Accumulation of Scleral Collagen during the Development of High Myopia.* – The Journal of Biological Chemistry, May 9, 2003, Vol. 278, No. 190, pp. 16587–16594.
14. Lam D. S. C., Lee W. S., Leung Y. F., Tam P. O. S., Fan D. S. P., Fan B. J., Pang C. P. *TGFβ-Induced Factor: A Candidate Gene for High Myopia.* – Investigative Ophthalmology & Visual Science, March 2003, Vol. 44, No. 3, pp. 1012–1015.
15. Goss D. *Nearwork and Myopia.* – The Lancet, October 28, 2000, Vol. 356, pp. 1456–1457.
16. Lyhne N., Sjølle A. K., Kyvik K. O., Green A. *The Importance of Genes and Environment for Ocular Refraction and its Determiners: A Population Based Study among 20–45 Year Old Twins.* – Br. J. Ophthalmol., 2001, Vol. 85, pp. 1470–1476.
17. Mutti D. O., Mitchell G. L., Moeschberger M. L., Jones L. A., Zadnik K. *Parental Myopia, Near Work, School Achievement, and Children's Refractive Error.* – Invest. Ophthalm. & Vis. Sci., 2002, Vol. 43, No. 12, pp. 3633–3640.
18. Guggenheim J. A., Erichsen J. T., Hocking P. M., Wright N. F., Black R. *Similar Genetic Susceptibility to Form-deprivation Myopia in Three Strains of Chicken.* – Vis. Res., 2002, Vol. 42, pp. 2747–2756.
19. Morgan I. G. *The Biological Basis of Myopic Refractive Error.* – Clin. Exp. Optom., 2003, Vol. 86, No. 5, pp. 276–288.
20. Chung K. M., Chong E. *Near Esophoria is Associated with High Myopia.* – Clin. Exp. Optom., 2000, Vol. 83, No. 2, pp. 71–75.
21. Young T. L., Guo X. D., King R. A., Johnson J. M., Rada J. A. *Identification of Genes Expressed in a Human Scleral cDNA Library.* – Mol. Vis., 2003, Vol. 9, pp. 508–514.
22. Young T. L., Ronan S. M., Drahozal L. A., Wildenberg S. C., Alvear A. B., Oetting W. S., Atwood L. D., Wilkin D. J., and King R. A. *Evidence That Locus for Familial High Myopia Maps to Chromosome 18 p.* – A. J. Hum. Gen., 1998, Vol. 63, pp. 109–119.
23. *PCR Protocols & Reference Guides.* Promega. URL: www.promega.com/guides/pcr_guide, 21.04.2004.
24. Garcia-Closas M., Egan K. M., Abruzzo J., Newcomb P. A., Titus-Ernstoff L., Franklin T., Bender P. K., Beck J. C., Le Marchand L., Lum A., Alavanja M., Hayes R. B., Rutter

- J., Buetow K., Brinton L. A., Rothman N. *Collection of Genomic DNA from Adults in Epidemiological Studies by Buccal Cytobrush and Mouthwash*. – Cancer Epidemiol. Biomark. Prev., June 2001, Vol. 10, pp. 687–696.
25. Feigelson H. S., Rodriguez C., Robertson A. S., Jacobs E. J., Calle E. E., Reid Y. A., Thun M. J. *Determinants of DNA Yield and Quality from Buccal Cell Samples Collected with Mouthwash*. – Cancer Epidemiol. Biomark. Prev., September 2001, Vol. 10, pp. 1005–1008.
26. Mutti D. O., Semina E., Marazita M., Cooper M., Murray J. C., Zadnik K. *Genetic Loci for Pathological Myopia are not Associated with Juvenile Myopia*. – Am. J. Med. Genet., 2002, Vol. 112, Issue 4, pp. 355–360.

Summary

Myopia poses a challenge to lifestyle and a risk to ocular health for over 25% of Europeans and nearly 80% of the population in some Asian areas. Genetic research in the molecular basis of myopia and its biochemical mechanisms may unveil the risk factors and elucidate the targets of preventive therapy. In our research DNA was extracted from exfoliated buccal cells obtained by antiseptic “Hexoral” mouthwash. 51 myopic and 64 other young volunteers contributed to the research and completed a questionnaire of their familial, ocular and behavioural data.

The optical correction of myopia (in dioptres) complies with the normality (Shapiro-Wilk, $p=0.126>0.05$). Statistical processing lent no support to any linkage of myopia (in dioptres) to SNPs in the -110 and -8 position of the gene (Student T, $p>0.932$). There also seems to be neither any significant difference between the frequency of alleles among the entire collection and former reports ($\chi^2=0.025$, $p=0.999$), nor between the myopic (N=23) and other (N=17) individuals ($\chi^2=0.877$, $p=0.831$). No evidence was provided to any correlation of the degree of myopia and the number of hours the participants spend for sleep, reading or by a PC. The myopic volunteers spent more time by PCs than their non-myopic counterparts (Mann-Whitney U, $p=0.052$), yet this outcome can be a consequence rather than the cause of myopia.

ATSAUCE

- ⁱ Ar miopiju saistītie ģenētiskie apgabali ir kartēti ģenētiskajās datubāzēs www.sph.uth.tmc.edu/RetNet, www.ncbi.nlm.nih.gov/UniGene/Hs.Home.html, genome.ucsc.edu, www.ensembl.org.

Pirmās nacionālās cukura diabēta skrīninga programmas *DIA-screen* rezultāti

Results of the First National Diabetes Screening Programme *DIA-screen*

Valdis Pīrāgs, Natālija Bricina¹, Vilnis Dzērve¹, Inese Eisaka²

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: pirags@latnet.lv

¹ Latvijas Kardioloģijas institūts
Pilsõņu iela 13, Rīga, LV-1002
E-pasts: dzerve@lki.eunet.lv

² Servier International
192, avenue Charles de Gaulle
92578 Neuillu-sur-Seine Cedex-France

DIA-screen programma bija pirmais cukura diabēta skrīninga projekts Latvijas populācijā ar paaugstinātu diabēta saslimstības risku (vecums virs 45 gadiem, aptaukošanās, hipertensija, diabēts ģimenes vēsturē). Mēs atradām nediagnosticētu cukura diabētu 8,2%, traucētu tukšās dūšas glikēmiju 5,5% un traucētu glikozes toleranci 3,8% no apsekotajiem cilvēkiem. Tādējādi nediagnosticēti glikozes vielmaiņas traucējumi tika atrasti kopumā 17,5% skrīninga programmas dalībnieku.

Atslēgvārdi: cukura diabēts, populācijas skrīninga programma.

Ievads

2004. gada beigās Latvijas cukura diabēta slimnieku reģistrā bija dati par vairāk nekā 43 000 cukura diabēta pacientu, turklāt vairāk nekā 90% šo slimnieku ir reģistrēti kā 2. tipa diabēta pacienti. Patlaban ir grūti prognozēt tālāko diabēta slimnieku skaita pieaugumu, kas pēdējos trīs gados ir vidēji 17% gadā. Ja saglabātos šīs tendences, tad kopējais pacientu skaits 2006. gadā pārsniegtu 50 000 (2,4% no iedzīvotājiem), bet 2010. gadā sasniegtu 100 000 (5% no iedzīvotājiem). Protams, šādi aprēķini ir ļoti aptuveni, bet tie dod priekšstatu par iespējamo veselības aprūpes izdevumu pieaugumu un ir stratēģiski ļoti svarīgi valsts sociālā budžeta ilgtermiņa plānošanai.

Nemot vērā to, ka glikozes vielmaiņas traucējumi ir viens no galvenajiem sirds un asinsvadu slimību riska faktoriem, rodas paradokss, ko var saukt par “Latvijas fenomenu”: viena no zemākajām oficiāli reģistrētajām saslimstībām ar cukura diabētu Eiropā un vienlaikus viena no augstākajām mirstībām Eiropā no kardiovaskulārajām slimībām. Lai noskaidrotu patiesos diabēta izplatības skaitļus un precizētu iespējamo

diabēta pacientu pieaugumu turpmākajos gados, *DIA screen* programmas ekspertu komiteja veica cukura diabēta skrīninga programmu tiem ģimenes ārstu aprūpē esošajiem cilvēkiem, kuriem nav diagnosticēts cukura diabēts, bet ir paaugstināts risks saslimt ar šo ļoti bīstamo un komplikāciju izmaksu ziņā ļoti dārgo slimību.

Pētījuma subjekti un metodes

DIA-screen programmas ekspertu komiteja – I. Eisaka, A. Helds, V. Pīrāgs (vadītājs), I. Rasa un I. Štelmane – izveidoja ambulatorajai praksei piemērotu diabēta skrīninga algoritmu un pārraudzīja pētījumus. Pētījuma protokolu apstiprināja Latvijas Kardioloģijas institūta Ētikas komiteja.

Skrīninga programmā uzaicināja piedalīties ambulatori strādājošos endokrinologus 16 pilsētās dažādos Latvijas rajonos – Cēsīs, Daugavpilī, Gulbenē, Jēkabpilī, Jelgavā, Jūrmalā, Liepājā, Madonā, Ogrē, Preiļos, Rīgā, Talsos, Tukumā, Valkā, Valmierā un Ventspilī. Ekspertu komiteja saskaņā ar pētījumā iesaistītajiem endokrinologiem izvēlējās 100 ģimenes ārstus, kas praktizēja minētajās pilsētās vai rajonos. Katra pētījumā iesaistītā ģimenes ārsta pienākums bija veikt diabēta diagnostiskos testus 50 viņa praksē pierēģistrētiem cilvēkiem ar paaugstinātu diabēta risku. Kopā *DIA-screen* programmā iesaistīto ģimenes ārstu praksēs bija pierēģistrējušies 193 000 cilvēku, kas ir 8,2% no Latvijas iedzīvotāju skaita.

Saskaņā ar *DIA-screen* programmas protokolu pētījumā tika iekļauti tādi abu dzimumu cilvēki pēc 45 gadu vecuma, kuriem bez vecuma bija vēl kāds diabēta riska faktors – liekais ķermeņa svars (+5 riska punkti), arteriālā hipertensija (+5 punkti), 1. pakāpes asinsradīnieki slimo ar cukura diabētu (+2 punkti), smēķēšana (1 punkts), sievietēm – bērna dzimšanas svars virs 4 kg (+1 punkts). 45–64 gadu vecums tika novērtēts ar 5 pamata riska punktiem, bet vecums virs 65 gadiem ar 9 punktiem. Pētījumā iesaistītajiem ģimenes ārstiem bija jāizskaitļo cukura diabēta riska pakāpe pēc starptautiski atzītās anketas, kuras pamatā ir Amerikas Diabēta asociācijas ieteiktā diabēta riska noteikšanas anketa, kas papildināta ar jautājumu par smēķēšanu (+1 riska punkts), bet no kuras subjektivitātes dēļ izņemts jautājums par mazkustīgu dzīvesveidu (+5 riska punkti). Izslēgšanas kritēriji bija: vecums zem 45 gadiem, jau iepriekš zināms cukura diabēts vai nevēlēšanās piedalīties *DIA-screen* programmā.

Tiem pacientiem, kuriem cukura diabēta risks bija 10 un vairāk punktu, tajā pašā dienā noteica cukura līmeni kapilārajās asinīs ar glikometru *Glucotrend (Roche Diagnostics)*.

Atbilstoši Pasaules Veselības organizācijas [1] un Amerikas Diabēta asociācijas [2] cukura diabēta diagnostikas kritērijiem un Latvijas Diabēta asociācijas un Latvijas Endokrinologu asociācijas noteiktajām vadlīnijām [3], ģimenes ārsti cukura diabētu diagnosticēja trīs veidos:

- 1) ja tika konstatēti diabēta simptomi un glikēmija bija 11,1 mmol/l un vairāk, tad diagnozes apstiprināšanai pietika ar tūlītēju atkārtotu glikēmijas noteikšanu;
- 2) ja glikēmija bija robežās starp 5,5 un 11,0 mmol/l, diagnozes precizēšanai lūdza pacientu ierasties praksē citā dienā tukšā dūšā un asinis nosūtīja uz laboratoriju glikēmijas noteikšanai plazmā. Ja glikēmija tukšā dūšā plazmā divās atšķirīgās dienās bija 7,0 mmol/l un vairāk, pacienta diagnoze bija „cukura diabēts”;

- 3) ja glikēmija tukšā dūšā bija robežās starp 6,1 un 7,0 mmol/l, tika veikts orālais glikozes tolerances tests (OGTT):
 - a) ja glikēmija pēc divām stundām bija 11,1 mmol/l un vairāk, pacienta diagnoze bija „cukura diabēts”;
 - b) ja glikēmija OGTT laikā pēc divām stundām bija starp 7,8 un 11,0 mmol/l, diagnoze bija „traucēta glikozes tolerance”;
 - c) ja glikēmija pirms OGTT laikā pēc divām stundām bija zem 7,8 mmol/l, diagnoze bija „traucēta tukšās dūšas glikēmija”.

Pētījumā tika izmatoti Latvijā sertificēto laboratoriju pakalpojumi un Latvijā reģistrēti glikometri un teststrēmeles, kas atbilst pašreiz spēkā esošajiem standartiem. Rezultāti tika matemātiski apstrādāti un analizēti ar biostatistikas datorprogrammu palīdzību.

Rezultāti

DIA-screen programmas dalībnieku raksturojums. Kopumā skrīninga programmā iesaistīto ģimenes ārstu praksēs 3 mēnešu laikā (2003. gada janvāris–marts) tika apsekoti 4625 cilvēki (1301 vīrietis un 3324 sievietes), kuri bija vecāki par 45 gadiem un kuri bija piekrituši piedalīties skrīninga programmā. Viņu diabēta riska punktu summa bija 10 vai vairāk. No 4625 apsekotajiem tikai 29 trūka datu par izglītību, 9 – par ķermeņa masas indeksu (KMI), 7 – par asinsspiedienu, 3 – par vecumu. Tas liecina par visumā rūpīgu datu vākšanu. Pētījuma ietvaros apsekoto iedzīvotāju skaits bija 4,6% no *DIA-screen* programmā iekļauto 100 ģimenes ārstu praksēs reģistrēto skaita vecuma grupā virs 45 gadiem. 85% no apsekotajiem bija pilsētnieki, pārsvarā ar vidējo (51%) vai pamata (31%) izglītību. Dalībnieku vidējais vecums bija 65 gadi, vairākums bija sievietes – 71%. Galvenais diabēta papildu riska faktors apsekotajā populācijā bija liekais ķermeņa svars – 89% un paaugstināts asinsspiediens – 85%. Tikai neliela daļa dalībnieku atzina, ka viņiem ir 1. pakāpes asinsradinieki ar diabētu, ka viņām būtu piedzimis bērns ar dzimšanas svaru virs 4 kg vai ka viņi ir smēķētāji.

Lielākā daļa no pētījumā iekļautajiem bija vecuma grupā virs 65 gadiem (61%). Šiem apsekotajiem pietika ar vienu papildus riska faktoru, lai viņi atbilstu iekļaušanas kritērijiem. Visbiežāk kā diabēta papildu riska faktors tika minēta aptaukošanās, īpaši sievietēm, un paaugstināts asinsspiediens.

Ogļhidrātu vielmaiņas traucējumu prevalence. No pētījumā iekļautajiem 4625 cilvēkiem ar paaugstinātu diabēta risku 2267 cilvēkiem (48,0% no kopējā skaita) glikozes līmenis kapilārajās asinīs neatkarīgi no ēšanas bija mazāks par 5,5 mmol/l un tālākā izmeklēšana tika pārtraukta. Tiem 2275 cilvēkiem (49,2%), kuriem kapilārajās asinīs ar glikometru izmērītā glikēmija bija 5,5–11,0 mmol/l, turpināja izmeklēšanu tukšā dūšā pēc vismaz 8 stundu neēšanas. 1561 (33,8%) glikēmija asins plazmā tukšā dūšā bija zem 6,0 mmol/l, un arī viņiem pārtrauca tālāko izmeklēšanu, pieņemot, ka viņiem ir normāla ogļhidrātu vielmaiņa. 379 (8,2%) apsekotajiem, kuriem glikēmija tukšā dūšā plazmā bija 6,1–6,9 mmol/l, veica OGTT ar 75 gramiem glikozes tukšā dūšā. 327 (7%) apsekotajiem, kam glikēmija tukšā dūšā plazmā bija 7,0 mmol/l un vairāk, diagnozes apstiprināšanai citā dienā atkārtoja šo pašu analīzi. 225 cilvēkiem (4,9%) glikēmija atkārtoti sasniedza 7,0 mmol/l un vairāk, tādēļ viņiem tika noteikta diagnoze “cukura diabēts” un pārējiem 94 tika izdarīts OGTT.

Pēc ADA kritērijiem tiem 256 (5,5%) cilvēkiem, kam glikēmija tukšā dūšā plazmā bija 6,1–6,9 mmol/l vai atkārtotā tukšās dūšas glikēmijas pārbaudē tā nesasniedza 7,0 mmol/l, noteica diagnozi “traucēta tukšās dūšas glikēmija”.

Kopumā OGTT veica 475 (10,3%) skrīninga programmas dalībniekiem. 176 (3,8%) apsekotajiem, kam 2 stundu glikēmija bija 7,8–11,0 mmol/l, tika noteikta diagnoze “traucēta glikozes tolerance”, bet 71 (1,5%), kam 2 stundu glikēmija pārsniedza 11,0 mmol/l, tika noteikta diagnoze “cukura diabēts” (sk. 1. tabulu).

Visbiežāk cukura diabēts tika diagnosticēts, nosakot glikozi plazmā tukšā dūšā divas reizes – 225 pacientiem jeb 59% no visiem pirmo reizi diagnosticētajiem diabēta pacientiem. 82 pacientiem jeb 22% diabētu diagnosticēja jau pēc gadījuma glikēmijas, kas pārsniedza 11,1 mmol/l, savukārt tikai 71 jeb 19% diabēta diagnozes noteikšanai bija nepieciešams OGTT. Kopējais cilvēku skaits ar ogļhidrātu vielmaiņas traucējumiem bija 811 jeb 17,5%.

1. tabula

DIA-screen programmas galvenie rezultāti

	Kopējais skaits (%)	Vid. vecums (gadi± SD)	Sievietes, (%)	Palielināts ķermeņa svars (%)	Paaugstināts asinsspiediens (%)
Pirmreizējs cukura diabēts	379 (8,2%)	64,2 ±10,3	67,3	93,2	87,2
Traucēta tukšās dūšas glikēmija	256 (5,5%)	64,3 ± 9,8	66,4	90,9	87,4
Traucēta glikozes tolerance	176 (3,8 %)	65,1±9,7	65,3	94,3	88,0
Normāla ogļhidrātu vielmaiņa	3814 (82,5%)	65,1 ±10	73	88,2	80,1

Pacientu ar ogļhidrātu vielmaiņas traucējumiem raksturojums. Agrāk nediagnosticēts cukura diabēts tika atklāts 379 jeb 8,2% no *DIA-screen* programmā iekļautajiem cilvēkiem. Augstāka saslimstība ar diabētu šajā izlasē tika atklāta vīriešiem līdz 65 gadu vecumam – 11%. Gandrīz pusei tikko diagnosticēto pacientu ārsti konstatēja diabēta simptomus. Vairāk nekā 95% diabēta pacientu bija ķermeņa aptaukošanās. Ar diabētu slimajiem vīriešiem pēc 65 gadu vecuma palielināts svars bija 83% pacientu. Tikai 25 % arteriālās hipertensijas slimnieku ar jaunatklāto diabētu nelietoja antihipertensīvos preparātus, 38% lietoja tikai vienu antihipertensīvu preparātu, divus preparātus lietoja 28%, trīs preparātus – 8%, bet četrus preparātus – mazāk par 1%. Tomēr tikai 5% vīriešu un 2% sieviešu hipertensija bija labi kontrolēta.

Diskusija

Šis bija pirmais Latvijā veiktais cukura diabēta skrīninga pētījums, kura mērķis bija noteikt nediagnosticēto saslimstību ar cukura diabētu un citiem glikozes vielmaiņas traucējumiem paaugstināta riska populācijā, proti, cilvēkiem vecuma grupā virs 45 gadiem ar kādu papildu diabēta riska faktoru. Līdz šim reģistrētā cukura diabēta izplatība Latvijā ir viena no zemākajām Eiropā – tikai 1,5%, bet diabēta pacientu skaita pieaugums liecina par to, ka reālā šīs slimības izplatība varētu būt vairākas reizes lielāka par reģistrēto. Otrs pētījuma mērķis bija pārbaudīt, vai mūsu valstī var sekmīgi protokolēt diabēta skrīningu ģimenes ārstu praksēs visdažādākajos Latvijas novados.

Kopš Latvijas neatkarības atjaunošanas ir veikti trīs populācijas pētījumi, kuros bez citiem epidemioloģiskiem rādītājiem analizēta arī cukura diabēta un glikozes tolerances traucējumu izplatība un to saistība ar “klasiskajiem” kardiovaskulāro slimību riska faktoriem – visas Latvijas populācijas neinfekciozo slimību pētījums (1991.–1992. g.), Rīgas pilsētas (1997. g.) un Kuldīgas rajona (2000. g.) iedzīvotāju pētījumi. Latvijas Kardioloģijas institūta 1997. gadā Rīgā veiktajā “Rīgas iedzīvotāju sirds un asinsvadu slimību epidemioloģiskajā pētījumā” [4] parādīts, ka 40–69 gadu vecumā 68% cilvēku ir palielināts ķermeņa svars, 58% ir paaugstināts asinsspiediens, 24% smēķē (38% vīriešu un 13% sievietes) un 18% zina, ka viņu radnieki slimo ar diabētu.

Atbilstoši Latvijā pieņemtajām 2. tipa cukura diabēta pacientu aprūpes un ārstēšanas vadlīnijām [3], diabēta skrīnings ir jāveic visiem cilvēkiem pēc 45 gadu vecuma katrus trīs gadus, bet reizi gadā tiem, kuriem ir paaugstināts diabēta risks, proti, KMI virs 27 kg/m^2 , ar diabētu slimo 1. pakāpes radnieki (vecāki, brāļi vai māšas), agrāk zināma traucēta glikozes tolerance vai traucēta tukšās dūšas glikēmija, gestācijas diabēts anamnēzē, hipertensija vai dislipidēmija. ADA vadlīnijās pie riska grupas tiek pieskaitīti arī cilvēki ar policistisko olnīcu sindromu vai aterosklerotiskām slimībām [5], ko mēs neieviesām kā papildu riska faktorus savā pētījumā. Pēc ADA rekomendācijām, galvenais cukura diabēta tests ir glikēmija plazmā tukšā dūšā, un OGTT jāveic tikai izņēmuma gadījumos.

Salīdzinājums ar citu valstu diabēta skrīninga programmu rezultātiem. Mūsu pētījuma rezultātā tika atklāts, ka Latvijā paaugstināta diabēta riska grupā nediagnosticēts cukura diabēts ir 8,2%, traucēta tukšās dūšas glikēmija – 5,5%, bet traucēta glikozes tolerance – 3,8% cilvēku. Līdzīgos skrīninga pētījumos iegūtie skaitļi mūsu valstī atšķiras no Vācijā, ASV, Kanādā un Austrālijā iegūtajiem datiem (sk. 2. tabulu).

2. tabula

Diabēta skrīninga pētījumu salīdzinošie rezultāti dažādās populācijās

Nosaukums, valsts	Pētījuma veids	Nediagnosti- cēts diabēts	Zināms diabēts	IFG	IGT
<i>DIA-screen</i> pētījums, Latvija	4625 cilvēki ar paaugstinātu diabēta risku vecumā virs 45 g.	8,2%	2,5%	5,5%	3,8%
KORA pētījums, Vācija	1 353 nejausi atlasīti cilvēki, 55–74 g. v.	8,2%	8,4%	7,0%	16,4%
RIAD pētījums, Vācija	1139 cilvēki ar augstu diabēta risku 40–70 g. v.	15,1%	-	27,1%	26,2%
DIASCAN pētījums, Kanāda	9042 cilvēki vecumā virs 40 g. ģimenes ārsta praksēs	2,2%	16,4%	3,5%	
Austrālijas diabēta skrīninga pētījums	50 000 cilvēki ar augstāku diabēta risku vecumā virs 40 gadiem	2,0%	10,8%	-	3,4%
Mičiganas diabēta skrīninga pētījums, ASV	3 506 cilvēki, 77% vecāki par 45 gadiem, no tiem 90% baltādaino, augsts diabēta risks 57%	5%	11%	-	-
<i>Health ABC</i> pētījums, ASV	3 075 cilvēki 70–79 g. v., 42% afroamerikāņu	8,0%	15,6%	-	-
Rekomendēto skrīninga testu pētījums, ASV	1471 cilvēki pēc 20 g. v. (57% virs 45 g. v.), galvenokārt no populācijām ar augstu diabēta risku	10,7%	-	15%	

IFG – traucēta tukšās dūšas glikēmija, IGT – traucēta glikozes tolerance

Secinājumi

Laikus nediagnosticēts un neārstēts cukura diabēts ir viena no lielākajām Latvijas veselības aprūpes problēmām, kas paātrina makrovaskulāro komplikāciju attīstību, novedot pie miokarda infarkta, smadzeņu insulta un kāju amputāciju biežuma pieauguma. Pirmā cukura diabēta skrīninga programma Latvijas iedzīvotājiem ar paaugstinātu diabēta risku (vecums virs 45 gadiem, aptaukošanās, hipertensija, ģimenes anamnēze) parādīja, ka 8,2% no viņiem ir nediagnosticēts cukura diabēts, 5,5% ir traucēta tukšās dūšas glikēmija un 3,8% ir traucēta glikozes tolerance. Tas nozīmē, ka 17,5% cilvēku šajā vecuma grupā ir nediagnosticēti glikozes vielmaiņas traucējumi jeb “prediabēts”, kas vairākkārt paaugstina viņu kardiovaskulāro risku.

Iegūtie rezultāti ļauj izdarīt aplēses, ka reālā saskarsmība ar cukura diabētu Latvijā ir vismaz 3,8%, proti, vairāk nekā pusei diabēta pacientu slimība nav diagnosticēta un netiek ārstēta.

Lielā mirstība no sirds un asinsvadu slimībām un zemā diabēta izplatība („Latvijas fenomens”) vismaz daļēji ir skaidrojama ar novēlotu 2. tipa cukura diabēta diagnostiku un neadekvātu ārstēšanu. Latvijā ir nepieciešams ieviest diabēta profilakses programmu ar regulāru glikēmijas skrīningu pēc 45 gadu vecuma.

Turklāt *DIA-screen* programma pierādīja, ka ir iespējams sekmīgi veikt diabēta skrīningu 100 ģimenes ārstu praksēs. Tas turpmāk būs labs piemērs, kā Latvijā būtu jāīsteno profilakses programmas, lai samazinātu mirstību ar sirds un asinsvadu slimībām. Tā vēl arvien ir ļoti augsta laikus nediagnosticēta un neārstēta cukura diabēta dēļ.

Pateicība

DIA-screen vadības komiteja pateicas Latvijas Kardioloģijas institūta direktoram Vilnim Dzērvem un zinātniskajai līdzstrādniecei Natālijai Bricinai par atbalstu datu statistiskajā apstrādē, farmācijas kompānijai *Servier International* un īpaši Inesei Eisakai par finansiālu atbalstu diabēta skrīninga programmas veikšanai, kā arī visiem ārstiem un medicīnas māsām, kas piedalījās pētījumā. Pateicība arī visiem cilvēkiem, kas piekrita kļūt par pētījuma dalībniekiem un sniegt savu ieguldījumu medicīnas un zinātnes attīstībā.

LITERATŪRA

1. Alberti K. G. M. M., Zimmet P. Z. for a WHO consultation. *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications; Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Geneva: World Health Organisation, 1999.
2. *Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care, 1997, 20, pp. 1183–1196.
3. Rasa I., Pīrāgs V. *2. tipa cukura diabēta pacientu aprūpes un ārstēšanas vadlīnijas*. Rīga, 2000.
4. Latvijas Kardioloģijas institūts. *Rīgas iedzīvotāju sirds un asinsvadu slimības un to riska faktori*. Rīga, 2000.
5. *Screening for Type 2 Diabetes (Technical Review)*. Diabetes Care, 2003, 26 (Suppl. 1), S21-S24.

Summary

DIA-screen program was the first diabetes screening study in the Latvian population with increased risk for diabetes (age 45 yrs, obesity, hypertension, family history of diabetes mellitus). Undiagnosed diabetes was found in 8.2%, impaired fasting glycemia was found in 5.5% and impaired glucose tolerance was revealed in 3.8% of participants. Thus, undiagnosed abnormalities of carbohydrate metabolism were diagnosed in 17.5% of participants.

This study could stimulate the implementation of preventive programmes targeted at reduction of high mortality rates from cardiovascular diseases in Latvia considering the strong link between the high rates of mortality from cardiovascular disease and delayed diagnosis and treatment of diabetes.

HHV-6 un parvovīrusa B19 infekciju sastopamība pacienti ar juvenilo artrītu Frequency of HHV-6 and Parvovirus B19 Infection among Children with Juvenile Arthritis

Ingrīda Rumba¹, Svetlana Kozireva², Karīna Ivanova²,
Arkādijs Gandzs⁴, Ieva Saulīte³, Olga Bracslavska²

¹ Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte
Sārlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: ingrida.rumba@lu.lv

² LU Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts
Rātsupītes iela 1, Rīga, LV-1067
E-pasts: carex@infonet.lv

³ Bērnu klīniskā slimnīca „Gaižezers”
Juglas iela 20, Rīga, LV-1079

⁴ Rīgas slimnīca „Bikur Holim”
Maskavas iela 122/128, LV-1003

Daži vīrusi var būt akūtu un hronisku artralģiju un artrītu etioloģiskais iemesls vai arī to paasinājumu veicinātājfaktors. Šī darba mērķis bija pētīt parvovīrusa B19 un cilvēka 6. tipa herpesvīrusa (HHV-6) infekcijas izplatību slimniekiem ar juvenilo idiopātisko artrītu (JIA). 38 JIA slimnieku un 13 kontroles pacientu perifērisko asiņu leikocīti un asins serumi un (vai) plazmas bija pārbaudīti uz parvovīrusa B19 un HHV-6 DNS klātbūtni ar polimerāzes ķēdes reakciju (PCR), kā arī uz pretvīrusa antivielām ar imūnfermentatīvo EIA un imūnfluorescences metodēm. Šī pētījuma rezultāti neparādīja parvovīrusa B19 infekcijas prevalenci JIA slimniekiem, salīdzinot ar kontroles grupu. Toties aktīva HHV-6 infekcija biežāk tika noteikta slimniekiem ar JIA. HHV-6 inficēto pacientu starpā JIA slimniekiem šī vīrusa DNS klātbūtne asins serumā bija konstatēta 42,2% gadījumos, tai pat laikā kontrolē tā ir atklāta tikai 23,1% gadījumos. Dīvos gadījumos JIA slimniekiem ar aktīvu HHV-6 infekciju bija novērojama smaga slimības forma ar destruktīviem locītavu bojājumiem. Īpaši smaga slimības gaita bija pacientei, kurai vienlaikus bija gan HHV-6, gan parvovīrusa B19 infekcija.

Atlēgvārdi: juvenīlais artrīts, cilvēka parvovīruss B19, 6. cilvēka herpesvīrusa (HHV-6) aktivācija.

Ievads

Vairāki vīrusi spēj izraisīt cilvēkiem artralģijas un artrītus, kuri attīstās klīniskas infekcijas izpausmes laikā vai arī nedaudz vēlāk. Viens no šiem vīrusiem ir mazais cilvēka parvovīruss B19, kas pieder *Parvoviridae* dzimtai un satur DNS. Parvovīrusa

B19 infekcijas gadījumā 8% inficēto bērnu un 60–80% saslimušo pieaugušo novēro locītavu simptomus [1, 2, 3]. Dažkārt primāras B19 parvovīrusa infekcijas gadījumā var attīstīties artropātijas. Parasti ar B19 infekciju asociētie akūtie artrīti pāriet dažu nedēļu laikā, tomēr dažos gadījumos ir novērojama prolongēta hroniska slimības gaita, kas var ilgt vairākus mēnešus un gadus [4, 5]. Pēc klīniskiem diagnostikas kritērijiem ar parvovīrusa B19 infekciju asociētie artrīti bieži atbilst juvenilam reimatoīdam artrītam un pieaugušo reimatoīdam artrītam (RA), kas var būt arī erozīvi [6, 7, 8]. Pēdējos gados strauji pieaug to publikāciju skaits, kas ziņo par B19 vīrusa saistību ar autoimūnām slimībām, tādām kā RA, sistēmiskā sarkanā vilkēde, vaskulīti. Ir zināmi arī vairāki citi vīrusi, kas ir iesaistīti autoimūno slimību patogēnēzē, piemēram, uzskata, ka cilvēka 6. tipa herpesvīrusa (HHV-6) aktivācija ir saistīta ar izkaisīto sklerozi [9, 10].

Šī darba mērķis bija pētīt parvovīrusa B19 un HHV-6 latentu un aktīvu infekciju slimniekiem ar juvenilo idiopātisko artrītu (JIA).

Materiāli un metodes

Pacienti. Pētījumā bija iekļauti 38 slimnieki ar dažādām JIA formām vecumā no 2 līdz 20 gadiem. No tiem 22 sievietes dzimuma un 15 vīriešu dzimuma (sk. 1. tab.), kā arī analogiska vecuma kontroles grupa no 13 bērniem (10 sievietes un 3 vīriešu dzimuma), kuriem nav autoimūno un locītavu saslimšanu.

1. tabula

Pacientu raksturojums

JIA klīniskas formas	Slimnieku skaits	Vidējais vecums	Autoimūnas antivielas*		HLA B27
			ANA	RF	
Oligoartikulārais	16	11,1	1/13	4/13	3/15
Poliartikulārais	18	13	4/16	6/15	3/15
Sistēmiskais	3	11	1/3	1/3	1/2
Psoriātiskais	1	18	0/1	0/1	NP

ANA – antinukleāras antivielas

RF – reimatoīdais faktors

NP – nav pārbaudīts

* – pozitīvo un izmeklēto slimnieku attiecība

Specifisko pretvīrusu antivielu noteikšana. Asins seruma paraugi bija pārbaudīti uz IgG un IgM antivielām pret parvovīrusa B19 struktūras proteīnu VP2 ar imūnfermentatīvo firmas *Biotrin EIA test* sistēmu. HHV-6 specifisko IgM klātbūtni asins seruma paraugos noteica ar imūnfluorescences metodi, izmantojot *Biotrin test* sistēmu.

HHV-6 un B19 specifisko DNS sekvenču noteikšana. DNS izolēja no perifērisko asiņu leukocītiem (PBL), kā arī no asins plazmas ar fenola-hloroforma metodi. Izdalītās DNS kvalitāti pārbaudīja, izmantojot beta-globīna polimerāzes ķēdes reakciju. Lai noteiktu HHV-6 un B19 genoma sekvenču klātbūtni PBL DNS un asins plazmas DNS, izmantoja PCR ar iekšējo praimēšanu – *nested-PCR*. HHV-6 DNS noteikšanai lietoja praimerus, kuri ir komplementāri kapsīda galvenos proteīnus kodējošam gēnam un kuri atpazīst abus vīrusa variantus (A un B) [11]. B19 detekciju

veica, kā aprakstīts *Hokynar* un līdzautoru darbā [12], lietojot *nested* praimeru pārus, kas ir komplementāri VP1 gēnam. PCR produktus vizualizēja ar elektroforēzi 1,5% agarozes gelā un analizēja ar *Kodak Electrophoresis Documentation and Analysis System 290*, ASV. HHV-6 un B19 infekcijas izplatības statistiskās atšķirības starp izmeklētajām grupām noteica, izmantojot Fišera testu, un rezultāts tika uzskatīts par ticamu, ja $p \leq 0,05$.

Rezultāti

Kontroles grupas izmeklēšana uz B19 anti-VP2 IgG parādīja to klātbūtni 77% pārbaudīto. Tas liecina par bijušu parvovīrusa B19 infekciju anamnēzē. Turpretī anti-B19 IgG bija atrasti tikai 42,1 % JIA slimnieku. Specifiskie B19 anti-VP2 IgM bija atrasti diviem kontroles grupas bērniem (15,4 %) un 2 (5,3 %) bērniem ar JIA. Tas liecina par primāro B19 infekciju vai arī par tās aktivāciju. B19 specifiskas DNS klātbūtne perifērisko asiņu leikocītos konstatēta 3 bērniem, no tiem 4 B19 IgM pozitīviem. Virēmija, par ko liecina B19 DNS klātbūtne asins plazmā, bija novērojama 1 JIA slimniekam un netika atrasta kontroles grupas bērniem. Tomēr B19 infekcija JIA slimniekiem netika atklāta biežāk kā kontroles grupā (sk. 2. tab.).

2. tabula

B19 un HHV-6 infekcijas sastopamība JIA slimniekiem un kontroles grupā

JIA klīniskās formas un kontrole	Izmeklēto skaits	Anti-B19 IgG	Anti-B19 IgM	B19 DNS		Anti-HHV-6 IgM	HHV-6 DNS	
				šūnas	plazma		šūnas	plazma
oligoartikulārais	16	7 (43,7%)	0	0	0	7 (43,7%)	11 (68,7%)	5 (35,7%)
poliartikulārais	18	9 (50%)	2 (11,1%)	1 (5,5%)	1 (5,5%)	8 (44,4%)	9 (50%)	4 (28,6%)
sistēmiskais	3	0	0	0	0	2	3	1
psoriātiskais	1	1	0	0	0	0	1	0
kopā JIA	38	17 (44,7%)	2 (5,3%)	1 (2,6%)	1 (2,6%)	17 (44,7%)	24 (63,1%)	10 (26,3%)
kontrole	13	10 (77,7%)	2 (15,4%)	2 (15,4%)	0	5 (38,5%)	8 (61,5%)	2 (15,4%)

JIA slimnieku un kontroles grupas perifērisko asiņu leikocītu pārbaude uz HHV-6 DNS secību klātbūtni (latentas herpesvīrusu infekcijas pazīme) neparādīja atšķirības starp slimniekiem un kontroles grupu. Arī to JIA pacientu skaita pārsvars, kuriem asins serumā bija konstatētas anti-HHV-6 IgM, nebija būtisks, salīdzinot ar kontroles grupu. Toties ar HHV-6 inficētiem JIA slimniekiem aktīva HHV-6 infekcija, uz ko norāda vīrusa DNS klātbūtne asins plazmā, tika atklāta ievērojami biežāk (42,2 %) nekā kontroles grupā (23,1%). Varētu domāt, ka JIA slimnieku virēmija ir skaidrojama ar imūnsupresīvas terapijas lietošanu. Tomēr tikai viens no desmit JIA pacientiem ar virēmiju saņēmis prednizolonu un metotreksātu. No pārējiem trīs slimnieki saņēmuši sulfasalazīnu, trīs – plakvenilu un vēl trīs – tikai pretiekaisuma līdzekļus diklofenaku vai ibuprofēnu (sk. 3. tab.).

Jāpiezīmē, ka vienai JIA slimniecei tika atklāta vienlaikus gan HHV-6, gan arī B19 infekcija. Anti-HHV-6 IgM un šī vīrusa DNS klātbūtne asins serumā liecināja

par aktīvu HHV-6 infekciju, bet anti-B19 IgM klātbūtne – par primāro B19 infekciju. Šai slimniecei novēroja ļoti smagu slimības gaitu ar destruktīvām locītavu izmaiņām. Smaga slimības gaita bija vēl vienai slimniecei ar aktīvu HHV-6 infekciju. Pārējiem 8 pacientiem, kam arī bija atklāta aktīva HHV-6 infekcija, novēroja vidēja smaguma saslimšanu. Autoantivielu (RF, ANA) un HLA-B27 alēles klātbūtne JIA slimniekiem nekorelēja ar HHV-6 infekciju.

3. tabula

HHV-6 infekcijas aktivācija tiem bērniem ar JIA,
kas bija saņēmuši dažādus terapeitiskus preparātus

Terapijas veids	Preparāts	Slimnieku skaits, kas bija saņēmuši doto preparātu	Slimnieki ar HHV-6 infekcijas aktivāciju
Imūnsupresīvā	Prednizolons	2	1 (50%)
Imūnkoriģējošā	Plakvenils, sulfalazīns	23	6 (26%)
Citostātiskā	Metotreksāts	3	0 (0%)
Preteikaisuma	Diklofenaks, ibuprofēns	10	3 (30%)

Diskusija

Virknē pētījumu ir parādīta B19 parvovīrusa infekcijas saistība ar JIA. Angulo Borreda un līdzautori pētīja 24 slimus bērnus, kam asinīs bija atrastas anti-B19 IgM antivielas. Septiņiem no tiem novēroja locītavu bojājumus, bet vienam poliartikulārais artrīts progresēja smagā reimatoīdā artrītā [13]. Barrerass un līdzautori izmeklēja 15 slimnīcā nonākušus bērnus, kas bija seropozitīvi uz B19 IgM, pieciem no tiem novēroja artrītus un vienam attīstījās JIA [14]. Oguzs un līdzautori novēroja JIA attīstību 3 no 16 IgM pozitīviem slimniekiem ar akūto artrītu [7]. Fon Landenbergs un līdzautori bērniem ar juvenilo artrītu atklāja persistentu B19 infekciju un B19 DNS [15].

Mūsu pētījumos iespējamais B19 inficētības pārsvars JIA slimniekiem nebija atrasts. Vēl vairāk – anti-B19 IgG biežāk bija konstatējami kontroles grupā (77%) nekā JIA slimniekiem (44,7%). Tas varētu būt skaidrojams ar JIA slimnieku imūnsupresīvo stāvokli, jo ir aprakstīti B19 pretvīrusa antivielu veidošanas defektu gadījumi personām ar imūnsupresiju. Hsu un līdzautori, izmeklējot 72 sistēmiskās sarkanās vilkēdes slimniekus, 23% gadījumu atrada parvovīrusa B19 DNS klātbūtni asins serumā, tai pašā laikā pretvīrusa antivielas netika konstatētas [16]. Šī pieņēmuma apstiprināšanai ir nepieciešami turpmākie šo slimnieku pētījumi. Parvovīrusa B19 DNS klātbūtne asins plazmā bija noteikta tikai vienā gadījumā – slimniecei ar JIA. Tomēr daži autori biežāk atrod B19 parvovīrusa DNS klātbūtni bērniem ar JIA. Lehmans un līdzautori, pārbaudot 74 slimniekus ar reimatoīdām saslimšanām 22–19,4 gadu vecumā, bieži atklāja B19 virēmiju. 35% gadījumu autori noteica B19 DNS klātbūtni slimnieku asins serumā un 22% gadījumu – arī sinoviālajā šķidrumā [17]. Pretrunīgie B19 infekcijas atklāšanas rezultāti JIA slimniekiem varētu būt skaidrojami gan ar vīrusa DNS noteikšanai lietotas PCR metodes jutību, gan arī ar B19 infekcijas uzliesmojuma un pārbaudes laika attiecību, kā arī ar individuālo iedzīvotāju jutību.

Pētot JIA slimniekus uz HHV-6 infekcijas klātbūtni, mēs atradām, ka HHV-6 infekcijas aktivācija ievērojami biežāk tika noteikta HHV-6 inficētajiem slimniekiem ar JIA (42,2%), salīdzinot ar kontroles grupu (24,4%).

Abi vīrusi – gan HHV-6, gan parvovīrus B19 – persistē veselo imūnkompetento cilvēku organismā. Parvovīrusa DNS atrod ādā, sinovijā, sēkliniekos un nierēs 40–75% pārbaudīto personu [18]. HHV-6 latentā stāvoklī persistē limfocītos [19]. Tāpēc HHV-6 DNS klātbūtnes noteikšana slimnieku serumā neļauj secināt, vai tā ir primāra HHV-6 infekcija, vai tas ir latentas infekcijas reaktivācijas rezultāts vai arī hroniska HHV-6 infekcija. Lai to noteiktu, ir nepieciešami papildu pētījumi ar atkārtotām slimnieku izmeklēšanām.

SECINĀJUMI

1. Salīdzinot ar kontroli, slimniekiem ar JIA B19 parvovīrusa infekcijas pārsvars netika konstatēts.
2. Slimniekiem ar JIA aktīva HHV-6 infekcija tika konstatēta ievērojami biežāk nekā kontroles grupā.
3. Divos gadījumos JIA slimniekiem bija novērojama slimības gaitas smaguma un aktīvas HHV-6 infekcijas saistība, īpaši HHV-6 un parvovīrusa B19 vienlaicīgas infekcijas gadījumā.

LITERATŪRA

1. Joseph P. R. *Fifth Disease: the Frequency of Joint Involvement in Adults*. New York State Journal of Med., 1986, 86, pp. 560–563.
2. White D. G., Woolf A. D., Mortimer P. P., Cohen B. J., Blake D. R., Bacon P. A. *Human Parvovirus Arthropathy*. Lancet, 1985, i, pp. 419–421.
3. Reid D. M., Reid T. M. S., Brown T., Rennie J. A. N., Eastmond C. J. *Human Parvovirus B19 Infection Associated with Arthritis*. Lancet, 1985, i, pp. 422–425.
4. Woolf A. D., Champion G. V., Chiswick A., Wise S., Cohen B. J., Klouds P. T., et al. *Clinical Manifestation of Human Parvovirus B19 in Adults*. Arch. Intern. Med., 1989, 149, pp. 1153–1156.
5. Brown K. E. *Human Parvovirus B19 Epidemiology and Clinical Manifestation*. In: Human parvovirus B19. Anderson L. J., Young W. S., (eds.). Basel: Karger (monogr. Virol.), 1997, pp. 42–60.
6. Tyndall A., Jelk W., Hirsch H. H. *Parvovirus B19 and Erosive Polyarthrititis*. Lancet, 1994, 343, pp. 480–481.
7. Oguz F., Akdeniz C., Unuvar E., Kucukbasmaci O., Sidal M. *Parvovirus B19 in the Acute Arthropathies and Juvenile Rheumatoid Arthritis*. J. Paediatr. Child. Health, 2002, 38, pp. 358–362.
8. Gran J. T., Johnsen V., Myklebust G., Nordbo S. A. *The Variable Clinical Picture of Arthritis Induced by Human Parvovirus B19. Report of Seven Adult Cases and Review of the Literature*. Scand. J. Rheumatol., 1995, 24, pp. 174–179.
9. Lehmann H. W., Knöll A., Küster R.-M., Modrow S. *Frequent Infection with a Viral Pathogen, Parvovirus B19 in Rheumatic Diseases of Childhood*. Arthritis Rheum., 2003, 48, pp. 1631–1638.
10. Meyer O. *Parvovirus B19 and Autoimmune Diseases*. Joint Bone Spine, 2003, 70, pp. 6–11.
11. Secchiero P., Carrigan D. R., Asano Y., Benedetti L., Crowley R. W., Komaroff A. L., Gallo R. C., Lusso P. *Detection of Human Herpesvirus 6 in Plasma of Children with Primary Infection and Immunosuppressed Patients by Polymerase Chain Reaction*. J. Infect. Dis., 1995, 171, pp. 273–280.

12. Hokynar K., Brunstein J., Söderlund-Venermo M., Kiviluoto O., Partio E. K., Konttinen Y., Hedman K. *Integrity and Full Coding Sequence of B19 Virus DNA Persisting in Human Synovial Tissue*. J. Gen. Virol., 2000, 81, pp. 1017–1025.
13. Borreda D., Palomera S., Gilbert B., Leinhard A., de Lumley L. *24 Cases of Human Parvovirus B19 Infection in Children*. Ann. Pediatr., 1992, 39, pp. 543–549.
14. Angulo Barreras M. P., Fernandes Lopez A., Perez de Saracho, Taramona M., Labayru Etxeberria M., Pocheville Guruzeta I., Gutierrez Villamayor C., Sojo Aquirre A. *Parvovirus B19 as Infectious Agent In Infants*. An. Exp. Pediatr., 1997, 47, pp. 575–578.
15. Von Landenberg P., Lehmann H. W., Knoll A., Dorsch S., Modrow S. *Antiphospholipid Antibodies in Pediatric and Adult Patients with Rheumatic Disease are Associated with Parvovirus B19 Infection*. Arthritis Rheum., 2003, 48, pp. 1939–1947.
16. Hsu T.-C., Tsay G. J. *Human Parvovirus B19 Infection in Patients with Systemic Lupus Erythematosus*. Rheumatology, 2001, 40, pp. 152–157.
17. Lehmann H. W., von Landenberg P., Modrow S. *Parvovirus B19 Infection and Autoimmune Disease*. Autoimmun. Rev., 2003, 2, pp. 218–223.
18. Söderlund-Venermo M., Hokynar K., Nieminen J., Rautakorpi H., Hedman K. *Persistence of Human Parvovirus B19 in Human Tissues*. Pathol. Biol., 2002, 50, pp. 307–316.
19. Dockrell D. H. *Human Herpesvirus 6: Molecular Biology and Clinical Features*. J. Med. Microbiol., 2003, 52, pp. 5–18.

Summary

Several viruses may cause or trigger various forms of acute and chronic arthralgia and arthritis and also contribute to arthropathy exacerbation. The role of viruses in the development of arthropathy and especially autoimmune arthritis is continually debated.

The aim of the present study was to investigate a possible association of HHV-6 and parvovirus B19 with the development and progression of juvenile idiopathic arthritis (JIA). The serum and leukocytes of blood from 38 patients with JIA and 13 control children were examined for the presence of parvovirus B19 and HHV-6 DNA using nested polymerase chain reaction as well as for specific anti-B19 and anti-HHV-6 antibodies using enzyme linked immunosorbent assay or immunofluorescence assay. No prevalence in the frequency of parvovirus B19 infection among the JIA patients in comparison with the control was observed. At the same time active HHV-6 infection was determined more frequently in patients with JIA. HHV-6 viremia was detected in 42.2% of JIA patients and only in 23.1% of control persons. Two JIA patients with active HHV-6 infection had severe course of disease with destructive damage of joints. In the patient with simultaneous HHV-6 and parvovirus B19 infections the course of the disease was especially serious.

Aizkuņģa dziedzera cistisko veidojumu diagnostika, izmantojot endoskopiskās ultrasonogrāfijas aspirācijas punktāta analīzi

Aiga Stāka, Aldis Puķītis, Juris Pokrotnieks

Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Gastroenteroloģijas centrs
Pilsõņu iela 13, Rīga, LV-1002
E-pasts: kamene@latnet.lv

Ievads

Visā pasaulē ir aktuāls jautājums par aizkuņģa dziedzera cistisko veidojumu diagnostiku un tālāko novērošanas un (vai) ārstēšanas taktiku. Uzlabojot un ieviešot jaunas radioloģiskās izmeklēšanas metodes, pieaug arī aizkuņģa dziedzera cistisko veidojumu diagnosticēšanas biežums gan pacientiem ar klīniskiem simptomiem (dzelte, sāpes vēderā, pankreatīts anamnēzē utt.), gan arī pacientiem bez jebkādiem klīniskiem simptomiem. Lielākā daļa no aizkuņģa dziedzera cistiskiem veidojumiem ir labdabīgi [3], bet apmēram 10% gadījumu [2, 8] tie ir aizkuņģa dziedzera cistiski audzēji. Pēc savas dabas tie var būt gan labdabīgi (ap 30%, piemēram, serozas cistadenomas), gan ļaundabīgi (piemēram, mucinoza cistadenokarcinoma), gan premaligni. Laikus diagnosticējot šādus audzējus, izārstēšanas procents un 5 gadu dzīvildze ir ievērojami lielāka [5] atšķirībā no aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas, kur 5 gadu dzīvildze ir mazāka par 10% pat radikālas operācijas gadījumā [6, 7]. Šī pētījuma mērķis ir uzlabot aizkuņģa dziedzera cistisko veidojumu diagnostiku, izmantojot endoskopiskās ultrasonogrāfijas (EUS) aspirācijas punktāta analīzi.

Metode

Pētījumā iekļāva 30 pacientus (12 sievietes un 18 vīriešus) vecumā no 34 līdz 81 gadam (vidējais vecums – 59 gadi), kuriem, izmantojot ultrasonogrāfiju (USG), EUS, kompjūtertomoģrafiju (CT) vai magnētiskās rezonanses izmeklējumu (MRI) metodi, konstatēja vienu vai vairākus cistiskus veidojumus aizkuņģa dziedzerī. Tika izmantots endoultrasonogrāfs *ProSound SSD-5000 Aloka®*, 150 GF-140P-AL50 (*Olympus®*). Punktējot un iegūstot aspirātu no aizkuņģa dziedzera cistiskiem veidojumiem, noteica:

- aspirāta citoloģiju,
- amilāzi,
- onkomarkķierus – karcinoembrionālo antigēnu (CEA) un karboanhidrāta antigēnu (CA 19-9).

Rezultāti

Izmantojot EUS metodi, konstatēja šādas izmaiņas aizkuņģa dziedzerī: ehostruktūras izmaiņas (izmēri, ehodensitātes izmaiņas) $n=22$, 73%), cistiski veidojumi ar septām, kalcifikāciju, solīdām struktūrām ($n=13$, 43%), aizkuņģa dziedzerā vada strukturālas izmaiņas ($n=15$, 50%). Cistiski veidojumi, kuri bija lielāki par 20 mm – $n=24$ (69%). Ķirurģiska ārstēšana bija lietota 9 gadījumos (30%). Citoloģijas analīzē malignas šūnas atrada 5 gadījumos (17%), augstas pakāpes adenokarcinomas šūnas – 3 gadījumos, zemas pakāpes adenokarcinomas šūnas – 1 gadījumā, Ne-Hodžkina limfomu – 1 gadījumā (sk. 1. tab.).

1. tabula

EUS-aspirācija $n=30$

EUS-aspirācija neizdevās $n=2$ 2/3 (6,7%)	EUS-aspirācija izdevās $n=28$ 28/30 (93,3%)	EUS-aspirācija +CA19-9 $n=10$ 10/30 (33,3%)	EUS-aspirācija +CEA $n=8$ 8/30 (27%)	EUS-aspirācija CEA+CA19-9+citol. $n=5$ 5/30 (16,7%)

Diviem pacientiem (6,7%) EUS aspirācijas punkcija neizdevās, jo traucēja cistas sienas kalcinoze, viskozs cistas saturs.

No pašreiz iegūtajiem datiem ir redzams, ka, izmantojot EUS un aspirāta analīzi, vairumā gadījumu ir iespējams diferencēt aizkuņģa dziedzerā benignos un malignos cistiskos veidojumus. Cistisko veidojumu satura citoloģijas un onkomarkieru analīze īpaši vērtīga ir diagnozes noteikšanā, ja ir norādījumi par cistiskā veidojuma malignitāti.

Diskusija

Aizvien biežāk ar radioloģiskām izmeklēšanas metodēm tiek diagnosticēti cistiski veidojumi aizkuņģa dziedzerī pat pilnīgi asimptomātiskiem pacientiem. Galvenais jautājums, uz kuru būtu jāatbild, atrodot cistisku veidojumu aizkuņģa dziedzerī, – kāds ir šis veidojums: maligns vai benigns, un kāda būtu tālākā novērošanas un (vai) ārstēšanas taktika. Mūsdienās nereti nākas kombinēt dažādus radioloģiskos izmeklējumus, lai noteiktu atrastā cistiskā veidojuma precīzu diagnozi. CT un ERHP ne vienmēr dod precīzu informāciju par aizkuņģa dziedzerā veidojuma iespējamo dabu. Neskaitot audu histoloģisko izmeklēšanu (visbiežāk – operācijas materiālu), līdz šim nebija cistisko veidojumu izmeklēšanas “zelta standarta”. Tāpēc praksē tika ieviesta EUS, lai precizētu cistisko veidojumu klasifikāciju pirms ķirurģiskās operācijas. Viens no pirmajiem un plašākiem pētījumiem par EUS nozīmi aizkuņģa dziedzerā cistisko veidojumu diagnostikā tika veikts laikā no 1995. līdz 1998. gadam Pensilvānijas Universitātē [1]. Kopā izdarīja 98 EUS pacientiem ar cistiskiem veidojumiem aizkuņģa dziedzerī. Tālāk 2 endoskopijas speciālisti neatkarīgi viens no otra analizēja 48 ķirurģiski ārstētu pacientu EUS vizuālos rezultātus un ieguva histoloģisko materiālu. EUS speciālists izvērtēja cistas sienas biežumu, infiltrāciju, limfadenopātiju, septas, cistu skaitu. Tad iegūto aprakstu salīdzināja ar šo veidojumu histoloģiju. Tika secināts, ka, izmantojot tikai EUS, nav iespējams spriest par cistisko veidojumu malignitāti. Brūge (*Brugge*) u. c. [4] Masačūsetsas Universitātē veica pētījumu, kur 2 gadu laikā iekļāva 341 pacientu ar cistiskiem veidojumiem aizkuņģa dziedzerī. Pētījuma mērķis bija

diferencēt aizkuņģa dziedzera mucinozos un nemucinozos cistiskos veidojumus. Visiem pacientiem veica EUS ar aspirācijas analīzi (citoloģija, onkomarķieri: CEA, CA 72-4, CA 125, CA 19-9, CA 15-3). Secinājumi bija šādi: EUS diagnostiskā precizitāte – 51%, citoloģijai – 59%, bet no onkomarķieriem CEA diagnostiskā precizitāte bija vislielākā – 79%. Mūsu pētījumu pēc dizaina varētu pielīdzināt iepriekš aprakstītam pētījumam, taču diagnostiskā precizitāte vislielākā bija nevis atsevišķai onkomarķieru vai citoloģijas analīzei, bet gan šo metožu kombinācijai.

SECINĀJUMI

Aizkuņģa dziedzera cistisko veidojumu aspirācijas analīze, izmantojot EUS, ir vienkārša un droša procedūra. Sekmīgs rezultāts ir līdz 93,3% gadījumu, un tas ir atkarīgs no cistiskā veidojuma satura, lieluma, lokalizācijas un vecuma. Atsevišķai onkomarķieru CA 19-9 un CEA noteikšanai ir mazāka diagnostiska vērtība, bet kombinēta CA 19-9 un CEA un citoloģijas analīze uzlabo diagnostikas specifiskumu līdz pat 100%. Tādējādi šī metode ievērojami palīdz noteikt tālākās ārstēšanas taktiku – konservatīvu vai ķirurģisku.

Pētījums un raksts tapis ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu.

LITERATŪRA

1. Ahmad N. A., Kochman M. L., Lewis J. D., Ginsberg G. G. *Can EUS Alone Differentiate Between Malignant and Benign Cystic Lesions of the Pancreas?* American Journal of Gastroenterology, 2001, 96, pp. 3295–3300.
2. Brugge W. R., Lauwers G. Y., Sahani D., del Castillo C. F., Warshaw A. L. *Cystic Neoplasms of the Pancreas*. The New England Journal of Medicine, 2004, 351, 12, pp. 1218–1226.
3. Ake Andren-Sandberg, Christos Dervenis. *Pancreatic Pseudocysts in the 21th Century. Part 1: Classification, Pathophysiology, Anatomic Considerations and Treatment*. Journal of the Pancreas, 2004, Vol 5, No 1, pp. 8–24.
4. Brugge W. R., Lewandrowski K., Lee-Lewandrowski E., Centeno B. A., Regan S., del Castillo C. F., Warshaw A. L. *Diagnosis of Pancreatic Cystic Neoplasms: a Report of the Cooperative Pancreatic Cyst Study*. Gastroenterology, 2004, 126(5), pp. 1330–1336.
5. Hammel P., Voitot H., Vilgrain V., Levy P., Ruzniewski P., Bernades P. *Diagnostic Value of CA 72-4 and Carcinoembryonic Antigen Determination in the Fluid of Pancreatic Cystic Lesions*. European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 1998, 10, pp. 345–348.
6. Vimalachandran D., Neoptolemos J. P., et al. *Genetics and Prevention of Pancreatic Cancer*. Cancer Control, Jan/Feb 2004, Vol. 11, No. 1, pp. 6–11.
7. Neoptolemos J. P., Stocken D. D., Friess H., Bassi C., Dunn J. A., Hickey H., Beger H., Fernandez-Cruz L., Dervenis C., Laccaine F., Falconi M., Pederzoli P., Pap A., Spooner D., Kerr D. J., Büchler M. W., the European Study Group for Pancreatic Cancer. *A Randomized Trial of Chemoradiotherapy and Chemotherapy after Resection of Pancreatic Cancer*. New England Journal of Medicine, 2004, Mar 18, 350, pp. 1200–1210.

8. Torresan F., Casadei R., Solmi L., Marrano D., Gandolfi L. *The Role of Ultrasound in the Differential Diagnosis of Serous and Mucinous Cystic Tumours of the Pancreas*. European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 1997, 9, pp. 169–172.
9. Sperti C., Pasquali C., Decet G., Chierichetti F., Liessi G., Pedrazzoli S. *18-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography in Differentiating Malignant From Benign Pancreatic Cysts: a Prospective Study*. Journal of Gastrointestinal Surgery, 2005, 9, pp. 22–29.

Summary

Pancreatic cystic lesions management using endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration fluid analysis.

INTRODUCTION. The aim of the study was to assess the performance of endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration (EUS-FNA) in the management of pancreatic cystic lesions using additional cystic content analysis (cytology, amylase content, CEA, CA 19-9). From data that are currently available, it appears that EUS can help to reliably distinguish between the majority of benign and neoplastic cystic lesions. In cases where high suspicion for malignancy exists the use of EUS-FNA for obtaining cytology and cystic fluid for analysis of various tumor markers improves the diagnostic yield.

METHODS. In total 30 patients (12 women, 18 men) in age from 34-81 (mean age 59 years) with one or more pancreatic cystic lesions detected by US, EUS, MRI or CT were involved. All pancreatic cystic lesions were considered for single time EUS-FNA. EUS equipment ProSound SSD-5000 Aloka®, 150 GF-140P-AL50 (Olympus®) was used.

RESULTS. EUS detected pancreas parenchymal changes (n=22, 73%), cystic lesions with septae, calcifications, solid structures (n=13, 43%), pancreatic duct size structure changes (n=15, 50%). Lesions bigger than 20 mm – n=24 (69%). Surgery treatment n=9 (30%). Cytology study of cyst content: malignant cells 5 cases (17%), high grade adenokarcinoma cells 3 cases, low grade adenokarcinoma cells - 1 case, non -Hodgkin lymphoma –1 case.

CONCLUSIONS. EUS-FNA helps in decision making for medical and surgical approach. EUS guided puncture with single time drainage of pancreatic cystic lesions is a simple, safe procedure (success rate up to 93,3%). EUS-FNA success depends on the cyst content, size, localization and age. Separate CA 19-9 and CEA values showed less diagnostic specificity, combined CEA+ CA 19-9 and cytology enhanced diagnostic sensitivity up to 100%.

Bērnu alotransplantēto nieru punkcijas biopsiju patomorfoloģija

Pathomorphological Characteristic of the Pediatric Patients Renal Allograft Punction Biopsy

Valērijs Šumakovs

ZP Transplantoloģijas un mākslīgo orgānu institūts
Ščukinskaja iela 1, Maskava 123182, Krievija
E-pasts: consultation@transpl.ru

Igors Iljinskis

ZP Transplantoloģijas un mākslīgo orgānu institūts
Ščukinskaja iela 1, Maskava 123182, Krievija
E-pasts: iiljinsky@transpl.ru

Valentīna Gordjušina

Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Patoloģijas katedra
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV-1001
E-pasts: anvalgar@bstos.lv

Aleksejs Valovs

Krievijas Nieru transplantoloģijas institūta Bērnu centrs
Ļeņinskij prosp. 117, Maskava 117513, Krievija

Pētījumā tika iekļauti 40 pacienti – bērni ar liķa nieres alotransplantātu (LNAT). Tika izpētītas 61 alotransplantāta punkcijas biopsijas (PB).

Mūsu pētījuma rezultāti parādīja, ka bērniem ar LNAT hroniska nieru nepietiekamības attīstība bieži bija saistīta ar iedzimtu nieru patoloģiju. Statistiski ticami biežāk nieru hipoplāziju novēroja zēniem ($p < 0,05$) nekā meitenēm. No iegūtām nieru slimībām, kuru dēļ attīstījās hroniska nieru nepietiekamība, kā zēniem ($p < 0,05$), tā arī meitenēm ($p < 0,02$) visbiežākā bija hronisks glomerulonefrīts, savukārt citas slimības novēroja krietni vien retāk.

Punkcijas biopsijas lielākai daļai izmeklēto atklāja akūtu LNAT atgrūšanu, kas attīstījās apmēram vienādi bieži dažādos laika posmos pēc transplantācijas. Akūtas atgrūšanas gadījumā pārsvarā novēroja jauktu intersticiālu asinsvadu formu, retāk sastapa intersticiālu formu ($p < 0,01$), vēl retāk asinsvadu formu ($p < 0,001$). Meitenēm, salīdzinot ar zēniem, hroniskā nieru atgrūšana bieži kombinējās ar akūtām atgrūšanas krīzēm ($p < 0,05$).

Atslēgvārdi: bērni, alotransplantētas nieres, punkcijas biopsija, patomorfoloģija.

Ārstējot dažāda vecuma bērnus ar hronisku nieru nepietiekamību (HNN), tai skaitā pacientus līdz gada vecumam, tiek plaši izmantota liķu nieru alotransplantācija [1, 2]. Sakarā ar to, ka HNN dēļ mazo pacientu orgānu un audu attīstība tiek būtiski kavēta, nieru transplantācija ir jāveic pēc iespējas agrīni, lai bērna organisms varētu

pilnvērtīgi attīstīties [3, 4]. Daudzi klīniski novērojumi apstiprina, ka agrīna LNAT pozitīvi ietekmē kopējo bērna attīstību. Speciālisti no Viskonsinas medicīnas hospitāļa ir salīdzinājuši transplantācijas rezultātus 2,9±1,3 gadus veciem bērniem (intervāls 1,6–5,0 gadi) un 11,4±4,4 gadus veciem bērniem (intervāls 6,0–18,5 gadi). Augums un vispārējā attīstība bija būtiski uzlabojusies jaunākajiem pacientiem, bet gados vecākajiem tā bija palikusi bez dinamikas [5, 6].

Tajā pašā laikā gados jaunākajiem pacientiem nieru transplantācijas rezultāti bija sliktāki salīdzinājumā ar gados vecākiem bērniem. Analizējot 136 nieru transplantāciju letālos gadījumus recipientiem vecumā no 0,3 līdz 17 gadiem, tika konstatēti šādi galvenie nāves iemesli: infekciju komplikācijas – 55 (40%), sirds un asinsvadu patoloģija – 28 (21%), asiņošanas – 16 (12%), ļaundabīgi audzēji – 9 (7%). Mirstības līmeni nosaka pamatsaslimšana, kura noved pie HNN: oksalūrija, iedzimts nefrotiskais sindroms, pielointerstiālais nefrīts. Augstāku mirstību novēroja recipientiem, kas saņēma liķu nieru transplantātus, salīdzinājumā ar recipientiem, kuriem nieres pārstādīja no dzīvīem radnieciskiem donoriem ($p < 0,05$). Turklāt, jo lielāka bija donora un recipienta vecuma starpība, jo letalitātes rādītāji bija augstāki. Galvenais nieru transplantācijas riska faktors bērniem ir recipienta vecums, tas bija: 0–1 gads, transplantējot no dzīva radnieciska donora, 0–5 gadi, transplantējot no liķa donora [7, 8].

Pēc Londonas bērnu hospitāļa datiem, recipientu izdzīvotspēja vecumā līdz 5 gadiem bija 100% (vidēji 3,3 gadi vecumā no 1,3 līdz 4,7 gadiem; ar donoru vidējo vecumu 7,8 gadi vecumā no 1,5 līdz 25 gadiem), bet transplantātu izdzīvotspēja pēc 13 gadiem bija 57%. 10 recipienti transplantātus zaudēja komplikāciju dēļ: transplantāta vēnu tromboze bez atgrūšanas pazīmēm – 4 gadījumi, akūta atgrūšana pēc asinsvadu tipa kombinācijā ar vēnu trombozi – 2 gadījumi, hroniska atgrūšana pēc asinsvadu tipa – 4 gadījumi [9].

Pēdējos gados bērniem novēro daudz labākus nieru transplantācijas rādītājus. Pitsburgas bērnu hospitālī tika veiktas 60 gan primāras, gan atkārtotas transplantācijas bērniem vecumā no 0,8 līdz 17,4 gadiem (vidēji 9,8±4,8 gadi), izmantojot gan liķu, gan dzīvu radniecisku donoru transplantātus. Tika pierādīts, ka transplantācija ir pirmā izvēles metode, ārstējot bērniem HNN [10]. Piemēram, vienu gadu pēc operācijas izdzīvoja 100% recipientu, turklāt transplantātu izdzīvošana bija 96% gadījumu. Labāki augšanas un attīstības rādītāji bija pacientiem ar imūnsupresiju, kad izmantoja FK506 bez prednizolona, salīdzinājumā ar standarta trīskomponentu shēmu, kad pamatā lieto ciklosporīnu [11, 12].

Valsts bērnu nieru Transplantācijas centrā (Maskavā) kopš 1992. gada LNAT funkciju traucējumu gadījumā diagnozes precizēšanai tiek veikta transplantātu punkcijas biopsija (PB) [13, 14, 15].

Sadarbojoties LU Medicīnas fakultātes Patoloģijas katedrai ar minēto Centru, apkopoti LNAT patoloģiju izmeklējumu rezultāti. Tika izmeklētas LNAT PB recipientiem vecumā no 6 līdz 14 gadiem.

Izmeklējumu materiāli un metodes

Izmeklējumu materiāli ietver LNAT 61 PB, kuras tika veiktas 40 bērniem. Zēnu vecums ($n=20$) vidēji bija 11,5±2,1 gadi (vecumā no 6 līdz 14 gadiem). Meiteņu vecums ($n=20$) vidēji bija 12,4±2,5 gadi (vecumā no 7 līdz 14 gadiem).

PB nebija plānveida, tās veica tad, ja radās grūtības transplantēto nieru klīniskajā komplikāciju diagnostikā. PB veikšanas laiki pēc LNAT ir apskatāmi 1. tabulā. PB veikšanas biežums dažādos laika periodos bērniem pēc LNAT statistiski būtiski neatšķirās. Kā redzams, pirmajā nedēļā pēc LNAT PB klīniskā nepieciešamība bija neliela, bet pēc tam katrā norādītajā laika posmā veikto izmeklējumu skaits bija aptuveni līdzīgs.

1. tabula

PB skaits dažādos laika periodos pēc LNAT

Laika periods pēc LNAT	PB skaits
1 stunda	1 (1,7%)
Līdz 1 nedēļai	2 (3,2%)
Līdz 1 mēnesim	12 (19,7%)
Līdz 3 mēnešiem	21 (34,4%)
Līdz 1 gadam	12 (19,7%)
Virs 1 gada	13 (21,3%)
Kopā:	61 (100%)

PB materiāls divas stundas tika fiksēts 10% neitrālā formalīnā, tad pēc paātrinātās izvadīšanas tika ieguldīts parafīnā. No parafīna blokiem tika gatavoti 4–5 μm biezi histoloģiskie griezumumi, kurus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu, ar Šifa reaktīvu un pēc fon Gizona metodes. Pēc vajadzības krāsoja pēc Pērla metodes un ar Kongo sarkano.

Pētījumu rezultāti un to apspriešana

Iegūtā materiāla analīze parādīja, ka bērnu vecuma pacientu vidū nieru primārās saslimšanas, kas noved pie HNN attīstības, bieži bija saistītas ar iedzimtu patoloģiju (meitenēm 50% novērojumu, zēniem 75% novērojumu; statistiskai atšķirībai nav nozīmes). Viena no iedzimtām patoloģijām – nieru hipoplāzija – tika konstatēta zēniem statistiski ticami ($p < 0,05$) biežāk nekā meitenēm. Attiecīgi zēniem šī patoloģija biežāk nekā meitenēm ($p < 0,05$) izraisīja HNN (sk. 2. tab.).

2. tabula

Bērnu iedzimtās nieru slimības, kuru dēļ attīstās HNN

Nozoloģiskā forma	Meitenes	Zēni
Nieru hipoplāzija	1 (10%)	8 (53,3%)
Nieru displāzija	2 (20%)	1 (6,7%)
Urīnpūšļa-urīnvalu reflukss	1 (10%)	1 (6,7%)
Nieru policistoze	3 (30%)	1 (6,7%)
Hidronefroze	1 (10%)	4 (26,6%)
Primārā oksalūrija	1 (10%)	0
Tubulārā acidoze	(10%)	
Kopējais iedzimto patoloģiju skaits	(100%)	(100%)

Četriem zēniem HNN attīstījās sakarā ar pašu nieru hidronefrozi, bet meitenēm šo patoloģiju konstatēja retāk, tomēr atšķirības statistiski nav ticamas. Nieru policistozes gadījumā HNN attīstījās 3 meitenēm un vienam zēnam ($p > 0,05$). Tādi HNN cēloņi kā urīnpūšļa un urīnvalu reflukss, primārā oksalūrija, tubulārā acidoze tika novēroti

tikai atsevišķos gadījumos (sk. 2. tab.). Mūsu pētījuma rezultāti atbilst literatūras datiem, ka visbiežākais HNN cēlonis bērniem un pusaudžiem ir iedzimtas nieru un urīnvadu attīstības anomālijas [16].

No iegūtām nieru patoloģijām, kuru dēļ bērniem attīstījās HNN kā meitenēm ($p < 0,02$), tā arī zēniem ($p < 0,05$), dominēja hronisks glomerulonefrīts. Citu veidu patoloģijas (sistēmas sarkanās vilkēdes nefrīts, hronisks pielonefrīts, nieru bojājumi pie hemolītiski urēmiskā sindroma) novēroja tikai atsevišķos gadījumos.

Kas attiecās uz pacientu dzimumu, statistiski ticamu atšķirību starp grupām neatrada (sk. 3. tab.).

3. tabula

Bērnu iegūtās nieru slimības, kuru dēļ attīstās HNN

Nozoloģiskā forma	Meitenes	Zēni
Sistēmas sarkanā vilkēde	1 (10%)	0
Hemolītiski urēmiskais sindroms	1 (10%)	1 (20%)
Hronisks glomerulonefrīts	6 (60%)	3 (60%)
Hronisks pielonefrīts	1 (10%)	0
Neskaidras izcelsmes nefropātija	1 (10%)	1 (20%)
Kopējais iedzimto patoloģiju skaits	10 (100%)	5 (100%)

Tika konstatēts, ka bērniem no iegūtām nieru patoloģijām, kuru dēļ attīstās HNN, samērā biežāk novēroja hroniska glomerulonefrīta dažādas formas. To vidū īpašu vietu ieņem fokāli segmentārā glomeruloskleroze. Mūsu pētījuma rezultāti saskan ar literatūras datiem [17, 18].

4. tabula

LNAT patoloģijas veidi bērniem pēc PB histoloģisko izmeklējumu rezultātiem

LNAT patoloģijas veidi	Meitenes	Zēni
Išēmisks transplantāta bojājums	3 (8,8%)	0
Išēmisks transplantāta bojājums + akūta atgrūšanas krīze	12 (5,9%)	2 (7,4%)
Išēmisks transplantāta bojājums + intersticiālais nefrīts	1 (2,9%)	0
Akūta atgrūšanas reakcija	11 (32,3%)	10 (37%)
Akūta atgrūšanas reakcija + akūta ciklosporīna nefrotoksikoze	0	2 (7,4%)
Akūta ciklosporīna nefrotoksikoze	4 (11,8%)	0
Hroniska ciklosporīna nefrotoksikoze	0	1 (3,7%)
Hroniska atgrūšanas reakcija	4 (11,8%)	3 (11,1%)
Hroniska atgrūšanas reakcija + akūta atgrūšanas krīze	6 (17,6%)	0
Atgriezeniskais glomerulonefrīts	1 (2,9%)	2 (7,4%)
Atgriezeniska oksaloze	1 (2,9%)	0
Atgriezeniskais hemolītiski urēmiskais sindroms	0	1 (3,7%)
Intersticiālais nefrīts	1 (2,9%)	3 (11,1%)
LNAT artērijās tromboze	0	2 (7,4%)
Norma	0	1 (3,7%)
Kopā:	34 (100%)	27 (100%)

PB histoloģisko izmeklējumu rezultāti bērniem ar LNAT parādīja visai plašu spektru dažādu veidu patoloģijas (sk. 4. tab.). Išēmiskos transplantātu bojājumus kā izolētā

formā, tā arī kombinācijā ar citu veidu komplikācijām meitenēm novēroja biežāk (17,6%) nekā zēniem (7,4%), bet šīs atšķirības nebija statistiski ticamas ($p>0,05$).

LNAT PB histoloģiskās pētīšanas rezultāti parādīja, ka visbiežākā patoloģija bija saistīta ar alotransplantēto nieru akūtu atgrūšanas reakciju ($p<0,05$): zēniem – 51,8% gadījumos, meitenēm – 52,9% gadījumos (statistiskā starpība nav ticama – $p>0,05$). Akūtas atgrūšanas intersticiālās formas (AAIF), intersticiālās asinsvadu (AAIAF) un asinsvadu (AAAF) formu sastopamības atšķirība zēniem un meitenēm nebija statistiski ticama. Lai gan neatkarīgi no dzimuma bērniem dominēja AAIAF, retāk diagnosticēja AAIF ($p<0,01$) un vēl retāk – AAAF ($p<0,001$) (sk. 5. tab.).

5. tabula

Dažādu LNAT akūtu atgrūšanas formu sastopamības biežums bērniem pēc PB histoloģiskiem rezultātiem

Akūtas atgrūšanas forma	Zēni	Meitenes	Kopā
AAIF	3 (21,4%)	6 (33,3%)	9 (28,1%)
AAIAF	9 (64,3%)	11 (61,1%)	20 (62,5%)
AAAF	2 (14,3%)	1 (5,6%)	3 (9,4%)
Kopā	14 (100%)	18 (100%)	32 (100%)

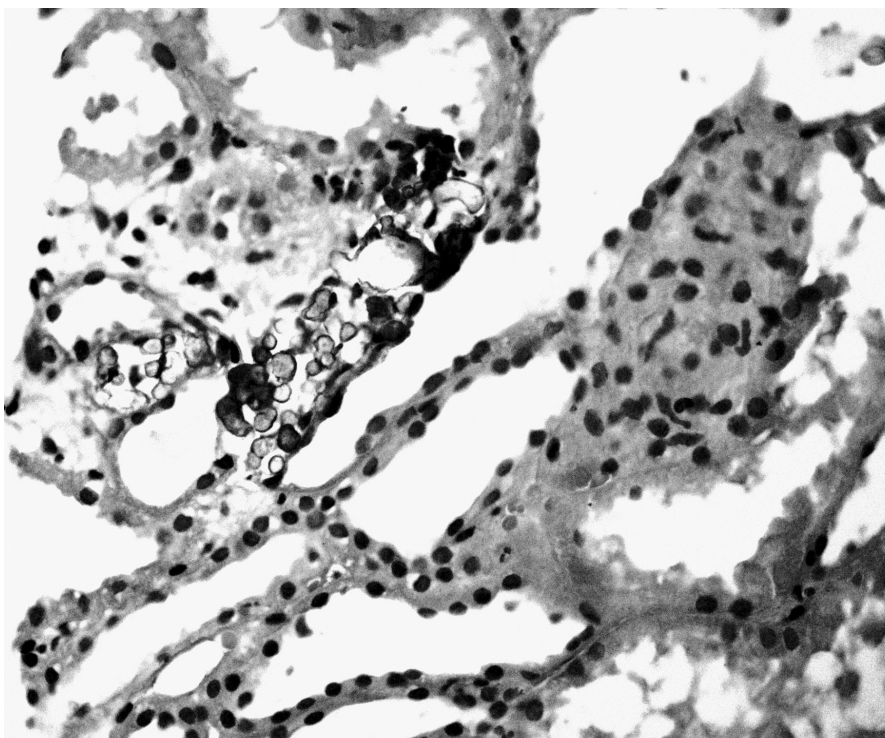
Pirmajā nedēļā pēc operācijas akūtas atgrūšanas krīzes bērniem nenovēroja. Iespējams, tas saistīts ar to, ka agrīnā periodā pēc LNAT pacientiem tika lietota agresīva imūnsupresīvā terapija [13]. Akūta nieru atgrūšana biežāk attīstījās intervālā no viena līdz trim mēnešiem pēc transplantācijas, nevis agrīnos vai samērā vēlīnos pēcoperācijas laika periodos, bet statistiski šīs atšķirības nav nozīmīgas ($p>0,05$). Tāpēc akūtas nieru atgrūšanas izpausmes īpatnība bērniem ir tā, ka atgrūšana var attīstīties jebkurā laika posmā pēc LNAT (sk. 6. tab.). Turklāt, pēc literatūras datiem, nieres mazspējas attīstība un transplantāta zaudējuma varbūtība imunoloģisku iemeslu dēļ ir būtiski lielāka ($p=0,011$) jaunākiem recipientiem, tāpēc ka viņiem atgrūšanas krīze attīstās agrāk ($p=0,0001$) [19].

6. tabula

LNAT akūto atgrūšanas krīžu skaits bērniem dažādos pēcoperācijas laika periodos pēc PB histoloģiskiem izmeklējumiem

LNAT PB veikšanas termiņi	Akūtās		
	Zēni	Meitenes	Kopā
no 8 līdz 30 diennaktīm	5 (35,7%)	4 (22,2%)	9 (28,2%)
no 31 līdz 92 diennaktīm	4 (28,6%)	7 (38,9%)	11 (34,4%)
no 93 diennaktīm līdz 1 gadam	2 (17,3%)	4 (22,2%)	6 (18,7%)
Virš viena gada	3 (21,4%)	3 (16,7%)	6 (18,73%)
Kopā	14 (100%)	18 (100%)	32 (100%)

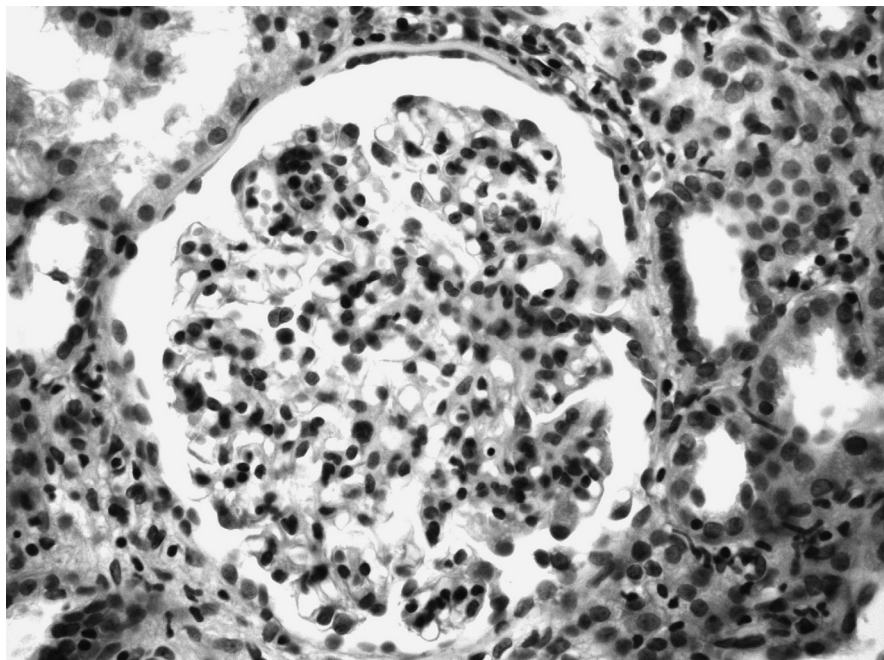
Uz ļoti plaša materiāla pamata tika parādīts, ka maziem bērniem vecumā līdz 10 gadiem, salīdzinājumā ar pieaugušiem, transplantāta atgrūšanas krīzes ir biežāk un tās sākas agrāk. Tas noved pie sliktākiem transplantātu un pacientu izdzīvošanas rezultātiem ($p<0,001$) [20].



1. zīm. Nieru alotransplantāta garozas slāņa stromā un kanāliņu lūmenā redz ļoti daudz kalcija oksalāta kristālu. Preparāts krāsots ar hematoksilīnu un eozīnu. Polarizācijas mikroskops. Daļēji krustotās Nikoļa prizmas. Palielinājums x250. Meitene, 7 gadi. HNN attīstījās primārās oksalūrijas rezultātā. LNAT PB N 2794 veikta 32. dienā pēc nieru transplantācijas. Slēdziens: HNN recidīvs izveidojās transplantāta disfunkcijas dēļ sakarā ar LNAT atgriezenisku patoloģiju – oksalāta kalcinozi.

Pēc mūsu datiem, vēlākos laika posmos pēc LNAT viena no biežāk sastopamām patoloģijām bija hroniska atgrūšanas reakcija (HAR), ko meitenēm novēroja vairāk nekā divas reizes biežāk (29,4%), salīdzinot ar zēniem (11,1%), lai gan statistiski šī atšķirība nav nozīmīga ($p > 0,05$). Vairāk nekā pusei novēroto meiteņu HAR (66,7% visu HAR gadījumu) kombinējās ar akūtas atgrūšanas krīzēm, bet zēniem HAR noritēja bez akūtām atgrūšanas krīzēm (statistiskā atšķirība ir ticama, $p < 0,05$).

Viena no iespējamām komplikācijām bērniem vēlīnos periodos pēc LNAT ir arī atgriezeniskas patoloģijas attīstība, ko konstatēja 4 pacienti (t. i., 6,5% no visiem PB izmeklējumiem). Atgriezeniskā LNAT patoloģija attīstījās vienai meitenei ar primāru oksalūriju (sk. 1. zīm.) un vienam zēnam ar hemolītiski urēmisko sindromu, diviem zēniem un vienai meitenei ar hronisku glomerulonefrītu. Šiem pacientiem pašu nieru glomerulonefrīta histoloģiskā forma nav zināma, jo nebija veikta PB, bet pēc LNAT transplantētās nierēs zēniem tika diagnosticēts membranozais glomerulonefrīts un meitenēm atklāta proliferatīvā intrakapilārā glomerulonefrīta aina (sk. 2., 3. zīm.).



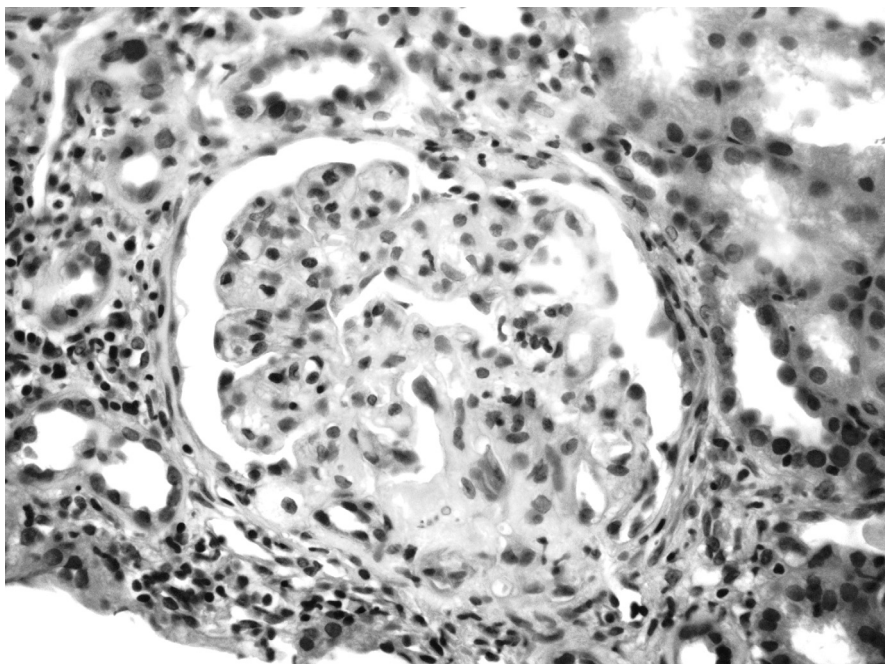
2. zīm. Nieres kamoliņš palielināts izmēros, izteikta kamoliņa hipercelularitāte. Preparāts krāsots ar hematoksilīnu un eozīnu. Palielinājums x400. Meitene, 14 gadi. Pacientes pašas nieru primārā saslimšana – hronisks glomerulonefrīts, kura dēļ attīstījās HNN. Diagnoze uzstādīta pēc klīniskiem datiem bez histoloģiskas diagnozes apstiprināšanas.

LNAT PB N 2594 veikta 3,5 gadus pēc nieru transplantācijas. Slēdziens: transplantāta proliferatīvais intrakapilārais glomerulonefrīts. Bez pašu nieru patoloģijas histoloģiskiem datiem nav iespējams precīzi noteikt, vai šeit ir atgriezeniskais transplantāta glomerulonefrīts vai glomerulonefrīts *de novo*.

Pēc literatūras datiem, bērniem ar alotransplantētām nierēm visbiežāk atgriezeniskais glomerulonefrīts tiek novērots fokāli segmentārās glomerulosklerozes (FSGS) gadījumā. Tika veikts speciāls pētījums 132 pacientiem par atgriezeniskās FSGS cēloņiem, attīstības biežumu un riska faktoriem. Pēc PB histoloģisko izmeklējumu rezultātiem 27 (20,5%) pacientiem tika diagnosticēts atgriezeniskais FSGS (vidējais attīstības termiņš bija 14 diennaktis). Puse bērnu ar diagnosticētu FSGS bija jaunāki par pieciem gadiem. Atgriezeniskā FSGS sastopamība Amerikas (23%) un Latīņamerikas (20%) bērniem bija līdzīga, bet augstāka nekā Amerikā dzīvojošiem afrikāņu bērniem (9%). Vidējais laika posms no atgriezeniskā FSGS diagnosticēšanas brīža līdz HNN attīstībai ilga 33 mēnešus, slimniekiem ar citām glomerulonefrīta formām – 52 mēnešus ($p < 0,05$) [21, 22, 23].

Mūsu materiālā atgriezeniskās patoloģijas attīstības biežums pie LNAT bija apmēram tāds pats kā pēc citu autoru datiem. Pēc primārās transplantācijas 4776 pacientu vidū, kas reģistrēti *European Dialysis and Transplant Association*, 2133 recipientiem novēroja transplantāta funkcijas nepietiekamību. No tiem 5,6% bija saistīti ar atgriezenisku primāru nieru saslimšanu. Nefrotiskais sindroms ar FSGS bija galvenā nieru patoloģija, kurai novēroja tendenci atgriezties. Šiem pacientiem

tā bija 20% no visiem novērotajiem transplantātu nepietiekamības gadījumiem. Citām glomerulopātiju formām – membranozām proliferatīvām glomerulonefrītām un Bergera slimībai – atgriezeniskums bija tikpat bieži. Atgriezeniskais transplantāta bojājums primāras oksalūrijas gadījumā bija tuvs 50%. Reti novēroja hemolītiski urēmiskā sindroma atgriezeniskumu [24, 25].



3. zīm. Fibroplastiskās transformācijas elementi proliferatīvā intrakapilārā glomerulonefrīta gadījumā

Pēc mūsu rezultātiem, LNAT gadījumos akūti un hroniski ciklosporīna izraisīti bojājumi var attīstīties kā agrīnā, tā arī vēlīnā pēcooperācijas periodā. Akūtas nefrotoksiskas ciklosporīna izraisītas izpausmes pēc LNAT PB novēroja 4 meitenēm. Zēniem tādas izmaiņas nekonstatēja. Ciklosporīna hronisko nefrotoksicitāti novēroja tikai vienam zēnam (statistiskā atšķirības ticamība nav būtiska).

Mūsu pētījuma rezultāti parādīja, ka bērniem ar LNAT HNN attīstība bieži bija saistīta ar iedzimtu nieru patoloģiju. Pārliecinoši biežāk nieru hipoplāziju novēroja zēniem ($p < 0,05$) nekā meitenēm. No iegūtām nieru slimībām, kuru dēļ attīstījās HNN, kā zēniem ($p < 0,05$), tā arī meitenēm ($p < 0,02$) pārsvarā bija hronisks glomerulonefrīts. Cita veida patoloģijas novēroja daudz retāk. Vairāk nekā pusei izmeklēto PB tika atklāta akūta LNAT atgrūšana, kura attīstījās aptuveni vienādi bieži dažādos laika posmos pēc operācijas. Akūtas atgrūšanas gadījumā pārsvarā novēroja intersticiālu asinsvadu formu, retāk konstatēja intersticiālu formu ($p < 0,01$), vēl retāk – asinsvadu formu ($p < 0,001$). Meitenēm atšķirībā no zēniem hroniskā atgrūšana bieži kombinējās ar akūtām atgrūšanas krīzēm ($p < 0,05$).

LITERATŪRA

1. Humar A., Arrazola L., Mauer M., Matas A. J., Najarian J. S. *Kidney Transplantation in Young Children: Should There be a Minimum Age?* *Pediatr. Nephrol.* 2001, 16(12), pp. 941–945.
2. Khwaja K., Humar A., Najarian J. S. *Kidney Transplants for Children Under 1 Year of Age - a Single-Center Experience.* *Pediatr. Transplant.* 2003, 7(3), pp. 163–167.
3. Clot J. P., Crosnier H., Guest G., Saucet C., Souberbielle J. C., Andre J. L., Broyer M., Rappaport R. *Effects of Growth Hormone on Growth Factors After Renal Transplantation.* *Pediatr. Nephrol.* 2001, 16(5), pp. 397–403.
4. Guest G., Berard E., Crosnier H., Chevallier T., Rappaport R., Broyer M. *Effects of Growth Hormone in Short Children After Renal Transplantation.* *French Society of Pediatric Nephrology.* *Pediatr. Nephrol.* 1998, 12(6), pp. 437–446.
5. Kari J. A., Romagnoli J., Duffy P., Fernando O. N., Rees L., Trompeter R. S. *Renal Transplantation in Children Under 5 Years of Age.* *Pediatr. Nephrol.* 1999, 13(9), pp. 730–736.
6. Leichter H. E., Sheth K. J., Gerlach M. J. *Outcome of Renal Transplantation in Children Aged 1–5 and 6–van Gieson metod 18 Years.* *Child. Nephrol. Urol.* 1992, 12, pp. 1–5.
7. Ojogho O., Sahney S., Cutler D., Abdelhalim F., Hasan M., Baron P., Concepcion W. *Superior Long-Term Results of Renal Transplantation in Children Under 5 Years of Age.* *Am. Surg.* 2002, 68(12), pp. 1115–1119.
8. Tejany A., Sullivan E. K., Alexander S. *Posttransplant Deaths and Factors That Influence the Mortality Rate in North American Children.* *Transplant.* 1994, 57, pp. 547–553.
9. Fitzpatrick M. M., Duffy P. G., Fernando O. N., et al. *Cadaveric Renal Transplantation in Children Under 5 Years of Age.* *Pediatr. Nephrol.* 1992, 6, pp. 166–171.
10. Vester U., Offner G., Hoyer P. F., Oldhafer K., Fangmann J., Pichlmayr R., Brodehl J. *End-Stage Renal Failure in Children Younger Than 6 Years: Renal Transplantati is the Therapy of Choice.* *Eur. J. Pediatr.* 1998, 157(3), pp. 239–242.
11. Shapiro R., Tzakis A., Scantlebury V., et al. *Improving Results of Pediatric Renal Transplantation.* *J. Am. Colleg. of Surg.* 1994, 179, pp. 424–432.
12. Shapiro R., Scantlebury V. P., Jordan M. L., Vivas C., Ellis D., Lombardoizzi-Lane S., Gilboa N., Gritsch H. A., Irish W., McCauley J., Fung J. J., Hakala T. R., Simmons R. L., Starzl T. E. *Pediatric Renal Transplantation Under Tacrolimus-Based Immunosuppression.* *Transplant.* 1999, 27, 67(2), pp. 299–303.
13. Каабак М. М. *Некоторые вопросы трансплантации почки у детей.* Автореферат канд. мед. наук. Москва, 1996, 24 с.
14. Сутько А. Д., Каабак М. М. *Влияние возраста донора и совместимости по системе HLA на результаты трансплантации почки у детей.* *Трансплантология и искусственные органы.* 1996, 2, с. 50–53.
15. Ильинский И. М., Строкань В. П., Асташова Г. В., Гордюшина В. С. *Пункционные методы диагностики почечных аллотрансплантатов.* В кн.: Вторая Всесоюзная конференция по трансплантации сердца, печени, поджелудочной железы и других органов. Москва, 1990, с. 78–80.
16. Benfield M. R., McDonald R., Sullivan E. K., Stablein D. M., Tejani A. *The 1997 Annual Renal Transplantation in Children Report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS).* *Pediatr. Transplant.* 1999, 3(2), pp. 152–167.
17. Baum M. A., Stablein D. M., Panzarino V. M., Tejani A., Harmon W. E., Alexander S. R. *Loss of Living Donor Renal Allograft Survival Advantage in Children with Focal Segmental Glomerulosclerosis.* *Kidney Int.* 2001, 59(1), pp. 328–333.

18. Floege J. *Recurrent Glomerulonephritis Following Renal Transplantation: an Update.* *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003, 18, pp. 1260–1265.
19. Pirsch J. D., Ploeg R. J., Gange S., D'Alessandro A. M., Knechtle S. J., Sollinger H. W., Kalayoglu M., Belzer F. O. *Determinants of Graft Survival After Renal Transplantation.* *Transplant.* 1996, 61(11), pp. 1581–1586.
20. Tejany A., Stablein D., Alexander S. *Analysis of Rejection Outcomes and Implications – a Report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study.* *Transplant.* 1995, 59, pp. 500–504.
21. Cosio F. G., Frankel W. L., Pelletier R. P. *Focal Segmental Glomerulosclerosis in Renal Allografts with Chronic Nephropathy: Implications for Graft Survival.* *Am. J. Kidney Dis.* 1999, 34(4), pp. 731–738.
22. Raafat R., Travis L. B., Kalia A., Diven S. *Role of Transplant Induction Therapy on Recurrence Rate of Focal Segmental Glomerulosclerosis.* *Pediatr. Nephrol.* 2000, 14(3), pp. 189–194.
23. Tejani A., Stablein D. H. *Recurrence of Focal Segmental Glomerulosclerosis Posttransplantation: a Special Report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study.* *J. Am. Soc. Nephrol.* 1992, 2, pp. 258–263.
24. Broyer M., Selwood N., Brunner F. *Recurrence of Primary Renal Disease on Kidney Graft: a European Pediatric Experience.* *J. Am. Soc. Nephrol.* 1992, 2, pp. 255–257.
25. Quan A., Sullivan E. K., Alexander S. R. *Recurrence of Hemolytic Uremic Syndrome After Renal Transplantation in Children: a Report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study.* *Transplant.* 2001, 72(4), pp. 742–745.

Summary

61 renal allograft probed puncture biopsies of corpse kidneys were executed on 40 pediatric patients.

The results of our investigation have shown that among children with renal allograft the development of chronic kidney insufficiency was frequently coupled to an inherent pathology of kidneys. The hypoplasia of kidneys occurred more often ($p < 0.05$) in boys, than in girls. From the acquired diseases of the kidneys which resulted in chronic kidney insufficiency in boys ($p < 0.05$), and in girls ($p < 0.02$) the chronic glomerulonephritis prevailed, and other diseases occurred much less often.

More than half of the probed puncture biopsies revealed an acute rejection of renal allograft, which developed identical frequency in various terms after transplantation. The prevalence of the interstitial-vascular form of an acute rejection is revealed, the interstitial form occurred less often ($p < 0.01$), and the vascular form of an acute rejection – even less often ($p < 0.001$). In girls as well as in boys the chronic rejection was frequently combined with acute crisis of rejection ($p < 0.05$).

Alotransplantētas sirds koronāro artēriju patoloģija Pathology of Coronary Arteries of Allografted Heart

Valērijs Šumakovs¹, Mogeļi Hubutija², Igors Iļjinskis³,
Valentīna Gordjušina⁴

^{1, 2, 3} ZP Transplantoloģijas un mākslīgo orgānu institūts
Ščukinskaja iela 1, Maskava 123182, Krievija
E-pasts: consultation@transpl.ru

⁴ Latvijas Universitātes Medicīnas fakultāte, Patoloģijas katedra
Šarlotes iela 1a, Rīga, LV- 1001
E-pasts: anvalgar@bstos.lv

Šajā darbā tika izpētītas 54 autopsijas cilvēkiem, kas miruši dažādos laika periodos pēc sirds alotransplantācijas, un 46 endomiokardiālās biopsijas. Īpaša uzmanība tika pievērsta koronāro artēriju slimībai, kuru kā komplikāciju bieži novēro sirds alotransplantāciju gadījumos. Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka pašlaik pastāvošais jēdziens “koronāro artēriju slimība” alotransplantētas sirds (ATS) gadījumā ietver vismaz piecu veidu patoloģijas, kas atšķiras pēc etioloģijas un patoģenēzes: 1) arterīti akūtas atgrūšanas gadījumā, 2) arterīti hroniskas atgrūšanas gadījumā, 3) ATS arterīti un arteriopātijas CMV-infekcijas gadījumā, 4) arteriopātijas ilgstošas ciklosporīna imunosupresijas gadījumā, 5) ATS artēriju ateroskleroze.

Atslēgvārdi: alotransplantēta sirds, koronāro artēriju slimība.

Key words: allografted heart, disease of arteria coronaria.

Literatūrā, kas ir veltīta sirds alotransplantāciju komplikācijām, pastāv tāds jēdziens kā „koronāro artēriju slimība” (KAS) [1, 2, 3]. Īpašā uzmanība, kas veltīta šai patoloģijai, ir izskaidrojama ar to, ka tieši koronāro artēriju bojājums ar sekojošu miokarda išēmiju ir galvenais faktors, kas limitē izdzīvošanu pēc sirds alotransplantācijas [4]. Tomēr trūkst tiešu datu par KAS etioloģiju un patoģenēzi, par šīs patoloģijas būtiski atšķirīgiem riska faktoriem. Starp tiem izdala imunoloģiskus faktorus (atgrūšanu, imunosupresīvu terapiju, citomegalovīrusa (CMV) infekciju) un neimunoloģiskus faktorus (hiperlipidēmiju, smēķēšanu, arteriālo hipertensiju, cukura diabētu, aptaukošanos) [5, 6, 7, 8, 9]. Kopējais atgrūšanas epizožu skaits, postoperatīvā arteriālā hipertensija un smēķēšana korelē ar KAS attīstības risku. Pie KAS attīstības riska faktoriem, neskaitot asinsvadu sienīgas imūno iekaisumu, jāmin arī paaugstināts vīrusu infekciju biežums imunosupresijas gadījumā un palielināta trombocītu agregācija.

Tātad pastāv ārkārtīgi liela faktoru daudzveidība, kas izraisa vai sekmē KAS attīstību pēc SAT. Tas liek domāt, vai KAS ir nozoloģiska forma vai arī ietver sevī slimību grupu, kas atšķiras pēc etioloģijas, patoģenēzes un morfoģenēzes, bet ir līdzīgas pēc klīniskām izpausmēm. Svarīgākā no tām ir miokarda išēmija. Tā kā alotransplantēta sirds ir deinervēta, parasti miokarda išēmija ir bez simptomiem

(„klusējoša”). ATS koronāro artēriju patoloģijā klīniski izdala koronāro artēriju patoloģijas bezsimptomu fāzi un sirds mazspējas progresējošu fāzi [10]. Turklāt sirds nepietiekamība var būt saistīta ar bezsimptomu miokarda infarktu, ko konstatē pēc EKG, un nereti tā ir vienīgā pazīme ATS smaga koronāro artēriju bojājuma gadījumā, kas var beigties ar pēkšņu nāvi. Koronārās asinsrites bojājumi, kas veidojas akūtas vai hroniskas atgrūšanas dēļ, izraisa miokarda išēmiju un bieži kombinējas ar sirds vadītājsistēmas traucējumiem, kuri klīniski manifestējas ar aritmijām [11].

ATS koronāro artēriju slimība ir klīnisks jēdziens, kas ietver koronārās asinsrites traucējumus sakarā ar ATS koronāro artēriju sienīņu strukturālām izmaiņām, bet neiekļauj etioloģiskos faktorus un patoģenētiskus mehānismus, bez kuru zināšanas nav iespējams veikt šīs komplikācijas mērķtiecīgu profilaksi un patoģenētisku ārstēšanu. Tāpēc ATS koronārās asinsrites traucējumu iemeslu un attīstības mehānismu agrīnai diagnostikai ir liela zinātniska un praktiskā nozīme.

Pašlaik ATS koronārās asinsrites traucējumu diagnostika aprobežojas ar koronāro artēriju angiogrāfiju un endomiokardiālo biopsiju (EMB) [12] histoloģiskiem izmeklējumiem. Abām metodēm ir būtiski trūkumi – tās nenodrošina slimības agrīnās stadijas diagnostiku. Artēriju lūmena sašaurinājumu zem 25% angiogrāfijā bieži nevar noteikt. EMB materiālā koronāro artēriju mazos atzarus sastop ne vairāk kā 20% biopsiju [13]. Objektīvu informāciju par ATS koronārās sistēmas patoloģijas raksturu un izplatību pašlaik var iegūt tikai retrospektīvi, veicot autopsijas materiāla patoanatomisku izmeklēšanu.

Šajā darbā apkopoti ATS koronāro artēriju patoloģiju izmeklējumu rezultāti, sadarbojoties LU Medicīnas fakultātes Patoloģijas katedrai un Maskavas ZP Transplantoloģijas un mākslīgo orgānu institūta Patomorfoloģiskai nodaļai.

Pēc mūsu izmeklējuma datiem, ATS artēriju patoloģijas biežums 1–3 gadus pēc operācijas ir 12,5%; vēlāk novēro strauju pieaugumu: pēc 3–5 gadiem – 15%; virs 5 gadiem – 42,8% [14]. Biežāk novēro B un C tipa artēriju patoloģijas. B1 tipam raksturīgas izteiktas koncentriskas artēriju vidējo daļu sašaurināšanās, distālo daļu obliterācijas un neizmainītas koronāro artēriju proksimālās daļas; B2 patoloģijas tipam raksturīga, sākot ar vidējām daļām, pakāpeniska lūmena sašaurināšanās līdz obliterācijai; C tipam novēro difūzus visu daļu bojājumus līdz koronāro artēriju distālo daļu obliterācijai. A tipu ar daudzveidīgām cauruļveida stenozēm dažādās asinsvadu daļās novēroja reti [15]. ATS koronāro artēriju patoloģijas dēļ letalitāte ir 61,8% [14].

Pēc mūsu ATS koronāro artēriju pētījumiem, kas veikti galvenokārt ar autopsijas un EMB materiāliem, mēs nonācām pie secinājuma, ka tā patoloģija, kuru pašlaik apzīmē kā koronāro artēriju slimību, var izpausties kā:

- 1) arterīti akūtas atgrūšanas gadījumā;
- 2) arterīti un arteriopātijas hroniskas atgrūšanas gadījumā;
- 3) ilgstošas imūnsupresīvas terapijas izraisītas arteriopātijas;
- 4) arterīti un arteriopātijas CMV-infekcijas gadījumā;
- 5) paātrināta ATS koronāro artēriju aterosklerozes attīstība.

Akūta atgrūšana. ATS akūtas atgrūšanas gadījumā novērojām izteiktus iekaisuma šūnu infiltrātus miokardā, kardiomiocītu deģenerāciju, akūtu arterītu ainu. Artēriju iekšējā apvalkā konstatējam limfoīdo šūnu infiltrāciju, intīmas tūsku, endoteliālo

šūnu proliferāciju un asinsvadu lūmenu sašaurināšanos, līdz ar to attīstās miokarda išēmija, kuras pakāpe un izplatība korelē ar akūtas atgrūšanas pakāpi. Smagām akūtām atgrūšanas krīzēm raksturīgi arī panarterīti ar artērijas sienīgas visu slāņu iekaisumu. ATS akūtas atgrūšanas arterītu gadījumos tika konstatēta imunoglobulīnu un komplimenta fiksācija uz asinsvadu endotēlija [16]. Tā noved pie intīmas caurlaidības pārmaiņām, gludo miocītu proliferācijas un transformācijas ar tai sekojošu arteriosklerozī, kas arī ir miokarda išēmijas cēlonis. Tiek bojātas dažāda kalibra artērijas, bet hemodinamiski būtisks ir distālās daļas bojājums, kur pilnīgi var apstāties asinsrite. Pat pēc veiksmīgi kupētām akūtām atgrūšanas krīzēm artēriju sienīgas skleroze ar lūmena sašaurināšanos (hroniska arteriopātija) ir nepietiekamas miokarda asinsapgādes cēlonis. Tāpēc šādas hroniskās artēriju patoloģijas profilakse ietver to pašu akūtas atgrūšanas krīzes profilaksi:

- 1) donora-recipienta pāra izvēle ar maksimāli saderīgiem HLA-antigēniem;
- 2) imūnsupresīvās terapijas optimizācija;
- 3) imunoloģiskais un klīniski morfoloģiskais monitorings (EMB), lai agrīni diagnosticētu akūtu atgrūšanas krīzi un laikus to ārstētētu;
- 4) miokarda išēmisko bojājumu samazināšanai akūtu atgrūšanas epizožu gadījumā ar sekojošiem koronāro artēriju distālo daļu bojājumiem jāveic antikoagulantu terapija sakarā ar sīko koronāro artēriju atzaru trombozi.

Hroniska atgrūšana. ATS, kā arī citu alotransplantātu (nieru, aknu, plaušu) hroniska atgrūšana ir vismazāk pētītā patoloģija. Šī komplikācija pat nav precīzi definēta. Literatūrā, aprakstot koronāro artēriju slimības, bieži liek vienādības zīmi starp aterosklerozi, hronisku atgrūšanu un citiem hroniskiem ATS artēriju patoloģijas veidiem. Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka ATS (un arī citu alotransplantātu) hroniska atgrūšana ir audu nesaderības hroniskas imūnās reakcijas patstāvīgs veids, kurā piedalās humorālie faktori, galvenokārt M klases imunoglobulīni un kompliments. To fiksācija artēriju sienīgā noved pie progresējošas saistaudu proliferācijas artēriju infimā. Attīstās arterioskleroze līdz pilnīgai artērijas lūmena obliterācijai (produktīvie arterīti un arteriopātijas). Sīko artēriju bojājumi noved pie daudziem mikroinfarktiem un sekojošām sīkperēkļainām sklerozēm. Iesaistoties šajā procesā lielākām miokarda zonām, progresē hroniska sirds nepietiekamība.

Var uzskatīt, ka hroniskas atgrūšanas process var veidoties visiem pacientiem pēc orgānu alotransplantācijas, bet to attīstības ātrums un intensitāte krasi atšķiras un ir atkarīgi no transplantētā orgāna veida, audu nesaderības pakāpes, nepietiekami adekvātas imūnsupresīvās terapijas u. c. Hroniskas atgrūšanas morfoloģiskās un klīniskās izpausmes var parādīties jau pāris mēnešus pēc ATS operācijas, bet var arī nebūt daudzus gadus pēc operācijas. Mūsdienu imūnsupresīvie preparāti, piemēram, ciklosporīns nenodrošina hroniskas atgrūšanas attīstības novēršanu. Pašlaik šīs patoloģijas profilakse un ārstēšana nav zināma. Miokarda išēmisko bojājumu samazināšanai hroniskas, kā arī akūtas atgrūšanas gadījumā lietderīgi veikt antikoagulantu terapiju, jo iespējama koronāro artēriju mazo atzaru tromboze.

Ciklosporīna arteriopātija. Zināms, ka ciklosporīns ir nefrotoksisks un hepatotoksisks preparāts, turklāt, lietojot to ilgstoši, sīko artēriju sienīgu sklerozes un hianilozes dēļ attīstās arteriālā hipertensija. Šīs izmaiņas tiek dēvētas par ciklosporīna hroniskas toksicitātes izpausmēm.

ATS ciklosporīna arteriopātija var izraisīt patoloģiskas izmaiņas ne tikai transplantāta artērijās, bet arī paša organisma iekšējo orgānu, īpaši aknu un nieru, asinsvados.

ATS miokardā hroniskas ciklosporīna nefrotoksicitātes gadījumos galvenokārt novēro arteriolu un koronāro artēriju sīko atzaru sienu hialinozi, mazāk izteikta ir sienu skleroze. Tas ir difūzas kardiosklerozes cēlonis, kas klīniski izpaužas ar transplantāta miokarda samazinātu kontraktilitāti.

Šīs patoloģijas profilakse pašlaik nav īstenojama nepieciešamās pastāvīgās imūnsupresijas dēļ, bet riska samazināšanai sistemātiski tiek kontrolēta ciklosporīna koncentrācija asinīs. Preparāta diennakts devas korekcijām nepieciešama liela ārsta prasme, kā arī jānodrošina nepieciešamais terapeitiskais efekts un jālieto minimāla deva, lai nepieļautu toksiskus ciklosporīna blakusefektus.

ATS arteriopātijas CMV-infekcijas gadījumā. Klasisku CMV-infekcijas citoloģisko ainu, kad redz milzīgās “pūces acs” šūnas, alotransplantētos orgānos novēro reti. Tajā pašā laikā vīrusa klātbūtne, ko nosaka ar imunoloģiskām metodēm, un CMV-infekcija, kad ir pozitīva gan vīrusa seroloģiskā reakcija, gan klīniskā aina (visbiežāk CMV-pneimonija), ir visai plaši izplatītas slimniekiem pēc ATS [10]. Tāpēc var secināt par morfoloģisku CMV-infekcijas hipodiagnostiku. Šīs komplikācijas morfoloģiskā diagnostika ir saistīta ar imūnhistoķīmisku metodi: notiek CMV-antigēna un antivielu izdalīšana ar monoklonāla seruma palīdzību. Ir zināms, ka CMV-infekcijas izraisa hroniskus arterītus un arteriopātijas, kas rada mikrocirkulācijas bojājumus un noved pie difūzas miokarda išēmijas. CMV-infekcijas profilakse, ārstēšana ar pretvīrusu preparātiem var veicināt ATS artēriju patoloģijas biežuma samazināšanos.

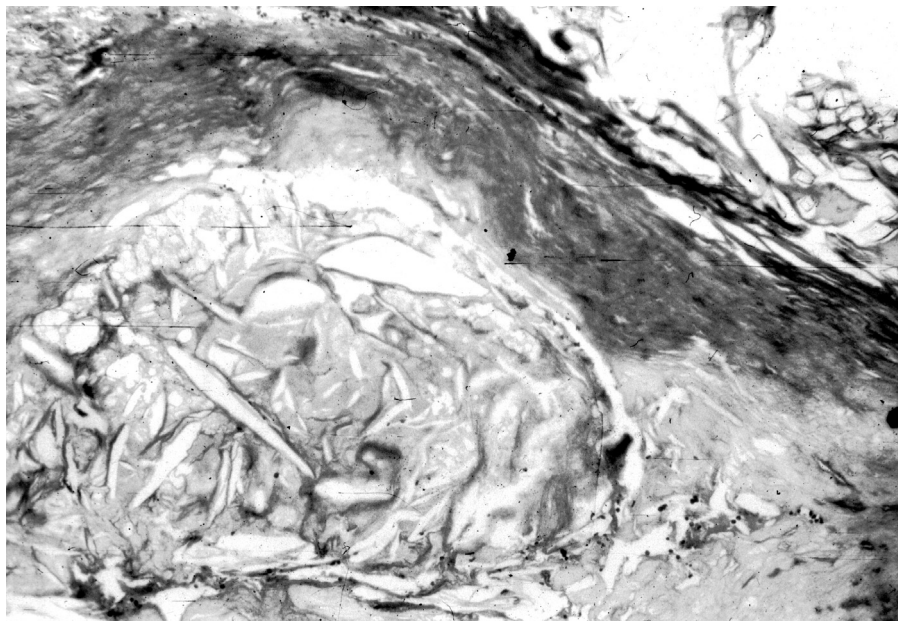
ATS koronāro artēriju paātrināta ateroskleroze. ATS koronāro artēriju ateroskleroze, kā arī aterosklerozes attīstība kopējā iedzīvotāju populācijā saistīta ar vienādiem patoģenētiskiem mehānismiem [11], taču ir dažas atšķirības.

Pēc mūsdienu uzskatiem, aterosklerozes patoģenēzes pamatposms ir saistīts ar lipīdu vielmaiņas traucējumiem – pacientam asins serumā ir palielināts zema un ļoti zema blīvuma lipoproteīdu un holesterīna daudzums. Tas ir saistīts ar ģenētiskiem lipīdu vielmaiņas traucējumiem vai arī iegūts alimentārā ceļā. Epidemioloģiskie aterosklerozes pētījumi norāda uz vairākiem aterosklerozes riska faktoriem, starp kuriem svarīgākie ir arteriālā hipertensija, hiperholesterinēmija un smēķēšana. Aterosklerozes patoģenēzē svarīgi ir arī tādi riska faktori kā stress, mazkustīgs dzīvesveids, cukura diabēts, podagra u. c.

Šiem faktoriem ir nozīme arī ATS koronāro artēriju aterosklerotisko bojājumu patoģenēzē. Tomēr ATS gadījumā patoloģiskā procesa attīstība ir paātrināta. Aterosklerotiskās izmaiņas novēro ne tikai koronāro artēriju sienā, bet arī aortā un plaušu artērijā. Turklāt to pakāpe vienmēr vairāk izteikta ir donoru aortas un plaušu artērijas segmentos.

ATS koronāro artēriju ateroskerozei ir virkne morfoloģisku īpatnību. Ateromatozās plātnītes reti izčūlo, ir vāji izteikta aterokalcinoze. Aterosklerotisko bojājumu zonās intīmā un adventīcijā mikroskopiski bieži novēro limfocitāru infiltrāciju. Bieži konstatē zonas ar intīmas tūsku un lipīdu uzkrāšanos (tūskaini lipīdu plankumi un svītras), kas, iespējams, saistīts ar vispārēju limfocirkulācijas traucējumu transplantātā.

Izmaiņas intīmā parasti pavada iekšējās elastīgās membrānas plīsumi, ir daudz holesterīna kristālu, gludo miocītu proliferācija ar turpmāku to transformāciju šūnās, kas satur lipīdus (sk. 1. zīm.).

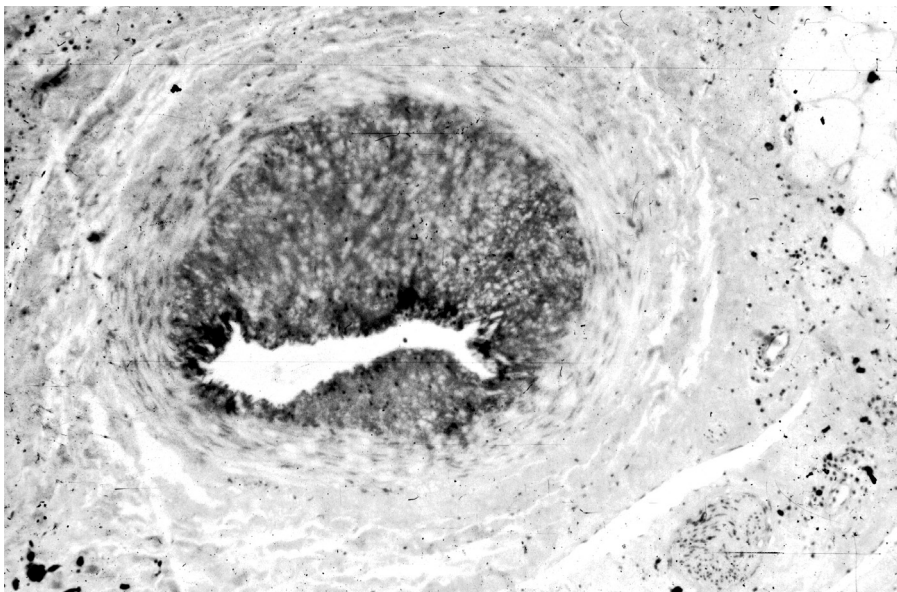


1. zīm. Alotransplantētas sirds koronārās artērijas subepikardiālā zara ateromatozā plātnīte. Krāsojums pēc Masona (*Masson*) metodes. Palielinājums x 400

Ņemot vērā mūsdienu zināšanas par aterosklerozes patoģenēzi, tās profilakse ATS artērijās būtu saistīta ar 1) lipīdu vielmaiņas korekciju, 2) arteriālā spiediena korekciju, 3) atteikšanos no smēķēšanas, 4) limfocirkulācijas stimulēšanu miokardā.

ATS koronāro artēriju aterosklerozes profilaksi un ārstēšanu apgrūtina tas, ka vienam un tam pašam pacientam paralēli var attīstīties dažādas citas patoloģijas, kuru īss raksturojums minēts iepriekš. Turklāt atsevišķiem pacientiem ilgstoši pēc operācijas (līdz 10 g.) tika novērota sirds nepietiekamība, kas bija saistīta tikai ar aterosklerotiskiem bojājumiem koronāro artēriju subepikardiālos zaros bez hroniskas atgrūšanas pazīmēm (sk. 2. zīm.). Artēriju sīkie intramiokardiālie zari pārsvarā bija bez patoloģiskām izmaiņām. Šiem novērojumiem ir praktiska nozīme, jo tādiem pacientiem iespējams veikt miokarda revaskularizāciju ar ķirurģiskām metodēm (angioplastiku, ATS koronāro artēriju aortokoronāru šuntēšanu).

Tādā veidā medicīnas literatūras un mūsu pētījumu rezultātu analīze ļauj izteikt domu, ka koronāro artēriju slimība nav kāda noteikta nozoloģiskā forma ar vienādu etioloģiju un patoģenēzi, bet ir ATS dažādu patoloģiju izpausme. Mūsu nepietiekamās zināšanas par ATS asinsvadu patoloģiju var būt attaisnojums, lietojot jēdzienu "koronāro artēriju slimība". Uzkrājoties zināšanām un pieaugot diagnostikas iespējām, šī jēdziena lietošana būs nepieļaujama.



2. zīm. Alotransplantētas sirds koronārās artērijas subepikardiālā zara subendoteliālā ekscentriskā saistaudu proliferācija. Krāsojums pēc Masson metodes. Palielinājums x400.

Pašlaik jēdziens „koronāro artēriju slimība” alotransplantētas sirds gadījumos ietver vismaz piecu veidu patoloģijas, kas atšķiras pēc etioloģijas un patoģenēzes: 1) arterīti akūtas atgrūšanas gadījumā, 2) arterīti hroniskas atgrūšanas gadījumā, 3) ATS arterīti un arteriopātijas CMV-infekcijas gadījumā, 4) arteriopātijas ilgstošas ciklosporīna imunosupresijas gadījumā, 5) ATS artēriju ateroskleroze.

LITERATŪRA

1. Ильинский И. М., Рябоштанова Е. И., Северин В. В. *Патоморфология аллотрансплантированных органов*. В кн.: Трансплантология. Руководство под ред. академика В. И. Шумакова. Москва: Медицина, 1995, с. 344–388.
2. Akhlaghi F., Jackson C. H., Parameshwar J., Sharples L. D., Trull A. K. *Risk Factors for the Development and Progression of Dyslipidemia After Heart Transplantation*. *Transpl.* 2002, 73(8), pp. 1258–1264.
3. Sīka G. *Būtiskākās problēmas pacientiem pēc sirds transplantācijas*. *Jums, Kolēģi!* 2003, 7, 15.–19. lpp.
4. Ильинский И. М., Лацис Г. В. *Морфологический анализ экспериментальной аллотрансплантации сердца в гетеротопическую позицию*. В кн.: Материалы I конференции кардиологов Латв. ССР. Рига: 1974, с. 206–208.
5. Semenenko E., Šahova R., Sproģis, U., Gailiņš E., Trepins A., Molodenkova S. *Sirds ortotopiskā transplantācija*. *Latvijas Ārsts*. 1994, 2, 103. lpp.
6. Kalniņš U., Lācis J., Gaile R., Sīka G. *Sirds transplantācija*. *Sirds mazspēja*. Aktualitātes. 2002, 5, 4.–5. lpp.
7. Sata M., Hirata Y., Nagai R. *Circulating Recipient Cells Contribute to Graft Coronary Arteriosclerosis*. *J. Cardiol.* 2002, 39(1), pp. 48–49.

8. Lācis R., Putniņš J., Stradiņš P., Strazdiņš U. *Sirds transplantācija*. Jums, Kolēģi! 2002, 7, 4.–8. lpp.
9. Weill D. *Role of Cytomegalovirus in Cardiac Allograft Vasculopathy*. Transpl. Infect. Dis. 2001, 2, pp. 44–48.
10. Шумаков В. И., Кормер А. Я., Казаков Э. Н. *Некоторые аспекты электрофизиологии и функционирования пересаженного сердца*. Трансплантология и искусственные органы. 1996, 3/4, с. 5–14.
11. Хубутя А. Ш., Селезнева Е. А., Олейникова Л. Г. *Аритмии после трансплантации сердца*. Трансплантология и искусственные органы. 1995, 1, с. 8–12.
12. Boyle J. J., Lawrie G., McPhaden A. R., Richens D., Lindop G. B. *Arterial Lesions Associated with Medial Disorganization and Fibrosis in Endomyocardial Biopsies from Human Cardiac Allografts*. Histopathology. 1995, 27(5), pp. 439–444.
13. Рябоштанова Е. И. *Клинико-морфологический анализ осложнений у больных после ортотопической трансплантации сердца*. Автореферат докт. мед. наук. Москва. 1995, 36 с.
14. Шумаков В. И., Казаков Э. Н., Хубутя М. Ш. *Трансплантация сердца, итоги работы с 1986 по 1999 гг.* Вестник трансплантологии и искусственных органов. 1999, 1, с. 8–12.
15. Казаков Э. Н., Кормер А. Я., Честухин В. В. *Патология коронарных артерий пересаженного сердца по данным коронарографии*. Трансплантология и искусственные органы. 1996, 3/4, с. 74–77.
16. Белецкая Л. В., Баранова Ф. С., Халимова З. А. *Итоги исследования гуморальных иммунопатологических изменений в миокарде при аллотрансплантации сердца*. Трансплантология и искусственные органы. 1995, 1, с. 20–24.
17. Ильинский И. М. *Патология лимфатической системы стенок артерий при атеросклерозе*. Рига: Зинатне, 1983, 175 с.

Summary

54 autopsies of patients who died in various periods after heart allotransplantation and 46 endomyocardial biopsies were studied. Special attention was given to pathology of coronary arteries, which, as a complication, was frequently observed in transplanted hearts. The results of our research testified that the current concept, which is – the illness of coronary arteries of a grafted heart, includes at least five kinds of pathologies with various etiologies and pathogenesis:

- 1) arteritis in acute rejection,
- 2) arteritis in chronic rejection,
- 3) arteritis of allotransplanted heart and arteriopathies in citomegaloviral infection,
- 4) arteriopathies as a result of long cyclosporine immunosuppression,
- 5) atherosclerosis of arteries of allotransplanted heart.

Inhibition of HMG-CoA Reductase Improves Cutaneous Vasomotor Responses in Type-2 Diabetes Patients with LDL-hypercholesterinemia

HMG-CoA reduktāzes inhibēšana uzlabo ādas vazomotoro regulāciju 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ar ZBL-hiperholesterinēmiju

Pēteris Tretjakovs

Institute of Experimental and Clinical Medicine,
University of Latvia, O. Vācieša 4, Rīga, LV-1004, Latvia
Centre of Endocrinology, Pauls Stradiņš Clinical University
Hospital, Pilsoņu 13, Rīga, LV-1002, Latvia
E-mail: tretjako@latnet.lv

Antra Jurka

Institute of Experimental and Clinical Medicine,
University of Latvia, O. Vācieša 4, Rīga, LV-1004, Latvia
Centre of Endocrinology, Pauls Stradiņš Clinical University
Hospital, Pilsoņu 13, Rīga, LV-1002, Latvia

Agnis Štīfts

Centre of Endocrinology, Pauls Stradiņš Clinical University
Hospital, Pilsoņu 13, Rīga, LV-1002, Latvia

Juris Aivars

Institute of Experimental and Clinical Medicine,
University of Latvia, O. Vācieša 4, Rīga, LV-1004, Latvia

Anda Jansone

Institute of Experimental and Clinical Medicine,
University of Latvia, O. Vācieša 4, Rīga, LV-1004, Latvia

Valdis Pīrāgs

Centre of Endocrinology, Pauls Stradiņš Clinical University
Hospital, Pilsoņu 13, Rīga, LV-1002, Latvia

Pētījuma mērķis bija novērtēt HMG-CoA reduktāzes inhibitora (atorvastatīna) ietekmi uz ādas vazomotoro regulāciju 2. tipa cukura diabēta (NIDDM) slimniekiem ar ZBL-hiperholesterinēmiju (LDL-H). 32 NIDDM slimnieki ar LDL-H veidoja divas grupas ar atšķirīgu atorvastatīna

devu: 16 slimnieki saņēma 10 mg (D10) un 16 slimnieki 40 mg (D40) dienā 8 nedēļas. 16 veseli cilvēki veidoja kontroles grupu (C). Pētījuma grupas bija ar līdzīgu vecumu, dzimumu proporciju un ķermeņa masas indeksu. Pirms un pēc terapijas, izmantojot mikrocirkulācijas lāzerdoplerogrāfiju (LD) (PeriFlux 4001, Perimed AB), tika noteikti postokluzīvās hiperēmijas (inducēta ar 3 min arteriālu oklūziju, sfingmomanometra aproce virs potītes) testa rādītāji kājas īkšķa spilventiņā: bazālā LD perfūzija (LDF; b-LDF, perfūzijas vienībās – PU), hiperēmijas procentuālā pārmaiņa pret b-LDF (d-LDF, %) un laiks līdz hiperēmijas LDF maksimumam (t-LDF, s). Tika novērtēta arī vazokonstriktorā atbilde uz dziļo ieelpu (v-LDF, %). Salīdzinot LD datus pirms un pēc terapijas, konstatējām, ka b-LDF un t-LDF statistiski ticami nemainījās abās slimnieku grupās ($p > 0.05$). Savukārt d-LDF bija samazināts abās slimnieku grupās ($p < 0.001$) un statistiski ticami uzlabojās pēc 8 nedēļu terapijas (D10: 167 ± 54 vs 248 ± 70 %, $p < 0.05$ and D40: 147 ± 52 vs 320 ± 136 %, $p < 0.001$). Līdzīgi, arī v-LDF rādītājs abās slimnieku grupās bija samazināts pirms terapijas uzsākšanas ($p < 0.01$), bet pēc 8 nedēļu terapijas uzlabojums bija vairāk izteikts slimnieku grupā ar lielāko atorvastatīna dienas devu (D10: 7 ± 5 vs D40: 11 ± 6 %, $p < 0.05$). Tādējādi mūsu iegūtie rezultāti liecina, ka 8 nedēļu atorvastatīna terapija būtiski uzlabo ādas vazomotoro regulāciju 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ar ZBL-hiperholesterinēmiju.

Atslēgvārdi: HMG-CoA reduktāzes inhibitors, ZBL-hiperholesterinēmija, ādas vazomotorā regulācija, lāzerdoplerogrāfija, cukura diabēts.

Key words: HMG-CoA reductase inhibitor, LDL-hypercholesterolemia, cutaneous vasomotor response, laser Doppler flowmetry, diabetic patients.

Introduction

Hypercholesterolemia is causally associated with defects of endothelial nitric oxide (NO)-dependent vasodilation. Increased uptake of cholesterol by endothelial cells (ECs) upregulates the abundance of the structural protein caveolin-1 and impairs NO release through the stabilization of the inhibitory heterocomplex between caveolin-1 and endothelial NO synthase (eNOS). Atorvastatin, 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitor promotes NO production by decreasing caveolin-1 expression in ECs, regardless of the level of extracellular low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) [1]. Atorvastatin has the therapeutic potential of inhibiting cholesterol synthesis in peripheral cells to correct NO-dependent endothelial dysfunction associated with hypercholesterolemia and possibly other diseases [1]. Statins are able to prevent the inhibitory action exerted by oxidized LDL on eNOS mRNA, and these drugs have an influence on vascular tone by modulating the expression of endothelial vasoactive factors [2]). It has been shown that atorvastatin leads to the upregulation of endothelial NO synthase expression and activity by 2.3- and 3-fold, respectively [3].

Inhibitors of HMG-CoA reductase improve endothelial function independently of their cholesterol-lowering effects [4]. Atorvastatin, pravastatin, and cerivastatin inhibit phorbol ester-stimulated superoxide anion formation in endothelium in a time- and concentration-dependent manner [5]. Findings demonstrate that inhibition of HMG-CoA reductase by using simvastatin and atorvastatin, but not pravastatin, has effects on vascular smooth muscle cell responsiveness that involve alteration of Ca^{2+} homeostasis through a mevalonate-dependent pathway [6].

Endothelial dysfunction, an early key event in atherosclerosis, occurs in patients with diabetes mellitus (DM). In patients with type-1 DM, improvement in endothelial dysfunction can be demonstrated after just six weeks of treatment with atorvastatin.

Treatment with atorvastatin at an early stage may have an impact on the progression of atherosclerosis in these high risk patients [7].

Recently published data show the effect of atorvastatin treatment on endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic patients. The responses of the forearm blood flow (FBF) to acetylcholine (ACh) were tested by evaluating them at baseline and after 1 month of atorvastatin (10 mg/day) treatment. ACh was infused into the brachial artery and FBF was measured by strain-gauge plethysmography. The atorvastatin treatment significantly improved ACh-stimulated FBF. The authors conclude that the endothelial dysfunction in hypercholesterolemics is due to an oxidative stress, and atorvastatin rapidly improves both basal and stimulated endothelium-dependent vasodilation [8].

Testing by a direct method for evaluating alterations in skin microhaemodynamics by laser Doppler flowmetry is a relatively novel clinical approach to the detection of vascular disturbances and evaluation of vasomotor control. Till now we have not found any papers on the effect of statins on microcirculation in diabetics. The purpose of our study was to evaluate the effect of atorvastatin on cutaneous vasomotor responses in type-2 diabetes (NIDDM) patients with LDL-hypercholesterolemia by means of laser Doppler flowmetry.

Materials and methods

Subjects. We formed two study groups of 32 NIDDM patients (44–72 years old) with LDL-hypercholesterolemia (LDL-C >4.2 mmol/L) based on 8-week atorvastatin (*Sortis*®) therapy: 1) oral treatment with 10 mg (D10, n=16) and 2) – with 40 mg per day (D40, n=16); and 3) healthy subjects group as controls (C, n=16). The study groups were matched for age, sex, and body mass index. Duration of diabetes was 4–9 years. Patients with good or satisfactory glycaemic control (glycated haemoglobin, HbA_{1c} <7.0%) and HbA_{1c} did not change significantly during the study. After 8-week atorvastatin therapy in all patients LDL-C was <3.3 mmol/L and the other lipid indexes (HDL-C, triglycerides) were also in the reference range. The patients were without polyneuropathy evaluated according to the requirements of San Antonio criteria (Anonymous, 1988) and without peripheral arterial occlusive disease (ankle brachial index was >0.9). They were without proliferative retinopathy or proteinuria, foot ulceration or peripheral oedema, venous insufficiency, pulmonary disease, coronary heart disease, anaemia and evidence of other confounding systemic disorders. All of them had clinically stable diabetes and there were no cases of hypoglycaemia at the time of the tests. All the subjects gave their informed consent to the protocol, which was approved by the Latvian Central Ethics Committee for Biomedical Research.

Blood flow measurements. Cutaneous blood flow was measured using a PeriFlux 4001, laser Doppler flowmeter (Perimed AB, Sweden). Theoretically, the flow is determined by the product of the number of red blood cells moving in the sample volume of tissue and the average velocity of red blood cells [10]. The range for Doppler shift measurements was 20 Hz to 24 kHz. The time constant of the output amplifier was set at 0.2 seconds. The analogue voltages corresponding to the flow from the laser Doppler (LD) were continuously recorded on a personal computer. Laser Doppler flux (LDF) was expressed in arbitrary perfusion units (PU).

The technique of laser Doppler flowmetry has been described in detail previously [11, 12]. Laser Doppler flowmetry measurements from the skin reflect blood flow in capillaries, arterioles, venules, and dermal vascular plexa [13]. We tested LDF at the following location: at the tip of the left great toe pulp using a LD probe with wavelength of transmission 780 nm.

Basal flow. The subjects were investigated in the supine position. When a steady signal had been obtained (after acclimatisation in the room $22 \pm 1^\circ\text{C}$), the mean LDF was calculated over the last 5 min by a PeriSoft for Windows computer-programme (Perimed AB, Sweden). This variable was termed basal LDF (b-LDF). This and the other variables of LDF tests were calculated by means of PeriSoft software. The intraindividual coefficient of variation (CV) for b-LDF was 27.5%.

Response to arterial occlusion. A sphygmomanometer cuff was placed above the ankle and then inflated greater than 40 mmHg above systolic pressure for a period of 3 min, followed by a sudden deflation. We calculated the time to peak LDF (t-LDF, s) and the percent increase of b-LDF (d-LDF, %) taking into consideration LDF during occlusion (“biological zero”). The CV of t-LDF was 18.9% and d-LDF was 29.6%.

Skin blood flow response to a deep inspiration. To assess the response to a deep inspiration, the subjects were instructed “*to take the quickest and deepest breath you can and hold it*”. In healthy control subjects, a deep inspiration causes an abrupt reduction in the skin blood flow response with a latency of a few seconds. The flow response recovers rapidly 10 s from the time of the minimal skin blood flow. This reduction in skin blood flow during a deep inspiration (v-LDF) is expressed in terms of the fall in flux and percentage vasoconstriction in blood flow in response to a deep inspiration breath [14]. We used a thermostatically controlled LDF probe holder fixed at a temperature of 35°C on the pulp of the toe (PeriTemp 4005 Heater, Perimed,) and calculated v-LDF as the mean of 3 measurements with 2 min interval. The VC of v-LDF was 34.7%.

Statistical analysis. For analysing our data we used software STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc, USA). After testing normality, data were expressed as means \pm SD and differences between groups were analysed using the t-test. A value of two-tailed $p < 0.05$ was considered to be statistically significant.

Results

Before atorvastatin therapy, the b-LDF (Figure 1) in the diabetic groups did not differ (mean \pm SD) from that in the control group (D10: 14.7 ± 6.5 , D40: 14.8 ± 5.6 vs C: 16.4 ± 5.2 PU, $p > 0.05$), and there were no significant differences after 8 weeks of treatment. d-LDF (Figure 2) was decreased in both patient groups, compared to the control group (D10: 89 ± 41 , D40: 93 ± 50 vs C: 189 ± 65 , $p < 0.001$), and improved after the therapy (D10: $p < 0.05$, D40: $p < 0.001$). Before the therapy in both diabetic groups, t-LDF (Figure 3) did not differ from the control group, and there were no significant differences after the therapy ($p > 0.05$). v-LDF was decreased in both patient groups (Figure 4) before the therapy ($p < 0.01$), but after the therapy the increase of v-LDF was higher in the group of patients treated with the higher dose (D10: 7.2 ± 8.5 vs D40: 11.4 ± 6.0 %, $p < 0.05$).

Discussion

Our study has shown that short-term therapy with atorvastatin has an effect on cutaneous LDF indexes in NIDDM patients with LDL-hypercholesterolemia. Moreover, eight weeks of oral therapy with 10 mg and 40 mg atorvastatin per day had diverse effects on LDF indexes of postocclusive hyperaemia and vasoconstrictor response tests. These findings demonstrate that atorvastatin can improve endothelium-dependent vasodilatation in the microvascular bed with a high density of arteriovenous anastomosis, e.g., the pulp of the toe. Significant amelioration of the percent increase of b-LDF in postocclusive hyperaemic LDF test after naftidrofuryl therapy could support the hypothesis of improved production and release of vasodilators (e.g., NO) from endothelial cells [15].

There are studies reporting on beneficial short-term effects of atorvastatin therapy, including effects on low-density lipoprotein subfractions and remnant-like lipoprotein particle cholesterol, antioxidant effects, and alterations in endothelial function that may be important in early benefit from statin therapy [16, 17]. Besides, both low and high doses of atorvastatin lead to early progressive improvement in endothelial function in patients with primary hypercholesterolaemia [18].

Endothelial dysfunction is frequently found in diabetic subjects. A recent study has shown that treatment with atorvastatin (10 mg daily for 3 months, followed by 20 mg daily for 3 months) in type 2 diabetes can lead to a significant improvement in endothelium-dependent vasodilation (endothelial function was assessed by high resolution vascular ultrasound of brachial artery) effect [19], although there are also studies that contradict these data, i.e., despite substantial lowering of all atherogenic lipid parameters (30 weeks' administration of atorvastatin 10 mg and 80 mg/day), no improvement of endothelium-dependent vasodilatation was found [20].

HMG-CoA reductase inhibitors (statins) may favorably affect endothelial function via nonlipid mechanisms. It has been shown that there is no correlation between the changes in flow-mediated vasodilation and LDL-C, suggesting either a LDL-C-independent effect on endothelial dysfunction (ED), or that a marked reduction in LDL-C is required to normalise ED in familial hypercholesterolaemia [21].

Atorvastatin restores endothelium-dependent vasodilation in normocholesterolemic cigarette smokers independent of changes in lipids. Findings implicate a potential role for statins therapy to restore endothelial function [22]. The pleiotropic activity of statins in endothelium, most likely not related to the inhibition of HMG-CoA reductase, may represent an intracellular correlate for the immediate release of NO and PGI₂ [23], but different statins can have diverse effects, i.e., simvastatin, cerivastatin and atorvastatin but not lovastatin have been shown to induce endothelium-dependent vasodilation [24]. It has been found that atorvastatin treatment not only improves hyperemic forearm blood flow and endothelial dysfunction but also decreases serum markers of oxidative stress and inflammation [25, 26, 27].

The results of our study showing that short-term treatment with atorvastatin improves endothelium-dependent vasodilation in the peripheral circulation correspond to the data of other studies obtained by different methods [28].

Recent studies have suggested that statins decrease blood pressure in hypertensive animals and upregulate eNOS expression. The published results suggest that

atorvastatin decreases blood pressure, at least in part via the reduction of sympathetic nervous system activity in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. They also suggest that this sympatho-inhibitory effect may be mediated by an increase in NO production, with the upregulation of eNOS expression in the brain [29].

A rapid and deep inspiration triggers a sympathetically mediated transient vasoconstriction of skin arterioles (inspiratory gasp vascular response) [30]. The LDF test is regarded as a useful and noninvasive method for revealing peripheral autonomic (sympathetic C fibers) neuropathy [31]. Vasomotor reflexes in the lower limbs (with high incidence) are markedly impaired in type-2 diabetes patients [14]. We found that atorvastatin had a pronounced and dose-dependent effect on the improvement in the vasoconstrictor response to deep inspiration. The beneficial effects of atorvastatin on cutaneous vasomotor responses can be related to the increase of autonomic sympathetic control.

Conclusion

8 weeks of atorvastatin therapy improved the cutaneous vasomotor response in diabetic patients with LDL-hypercholesterolemia. Our results suggest that atorvastatin has the therapeutic potential to improve endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic type-2 diabetes patients.

Acknowledgements

This study was supported by grant No. 01.0426 from the Latvian Council of Science.

REFERENCES

1. Feron, O., Dessy, C., Desager, J. P., Balligand, J. L. (2001) Hydroxy-Methylglutaryl-Cenzyme A Reductase Inhibition Promotes Endothelial Nitric Oxide Synthase Activation Through a Decrease in Caveolin Abundance. *Circulation*, 103 (1), 113–118.
2. Hernandez-Perera, O., Perez-Sala, D., Navarro-Antolin, J., Sanchez-Pascuala, R., Hernandez, G., Diaz, C., Lamas, S. (1998) Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Reductase Inhibitors, Atorvastatin and Simvastatin, on the Expression of Endothelin-1 and Endothelial Nitric Oxide Synthase in Vascular Endothelial Cells. *J. Clin. Invest.*, 12, 2711–2719.
3. Laufs, U., Endres, M., Custodis, F., Gertz, K., Nickenig, G., Liao, J. K., Bohm, M. (2000) Suppression of Endothelial Nitric Oxide Production after Withdrawal of Statin Treatment is Mediated by Negative Feedback Regulation of Rho Gtpase Gene Transcription. *Circulation*, 102 (25): 3104–3110.
4. Lopez, S., Peiretti, F., Bonardo, B., Juhan-Vague, I., Nalbone, G. (2000) Effect of Atorvastatin and Fluvastatin on the Expression of Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 in Cultured Human Endothelial Cells. *Atherosclerosis*, 152 (2), 359–366.
5. Wagner, A. H., Kohler, T., Ruckschloss, U., Just I., Hecker, M. (2000) Improvement of Nitric Oxide-Dependent Vasodilatation by HMG-Coa Reductase Inhibitors Through Attenuation of Endothelial Superoxide Anion Formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 20 (1), 61–69.
6. Tesfamariam, B., Frohlich, B. H., Gregg, R. E. (1999) Differential Effects of Pravastatin, Simvastatin, and Atorvastatin on Ca²⁺ Release and Vascular Reactivity. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 34 (1), 95–101.

7. Mullen, M. J., Wright, D., Donald, A. E., Thorne, S., Thomson, H., Deanfield, J. E. (2000) Atorvastatin but not L-arginine Improves Endothelial Function in Type I Diabetes Mellitus: a Double-Blind Study. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 36 (2), 410–416.
8. Perticone, F., Ceravolo, R., Maio, R., Cloro, C., Candigliota, M., Scozzafava, A., Mongiardo, A., Mastroroberto, P., Chello, M., Mattioli, P. L. (2000) Effects of Atorvastatin and Vitamin C on Endothelial Function of Hypercholesterolemic Patients. *Atherosclerosis*, 152 (2): 511–518.
9. Anonymous (1988) Consensus Panel: Report and Recommendations of the San Antonio Conference on Diabetic Neuropathy. *Ann. Neurol.*, 24, 99–104.
10. Barnett, N. J., Dougherty, G., Pettiger, S. J. (1990) Comparative Study of Two Laser Doppler Flowmeters. *J. Med. Eng. Technol.*, 14, 243–249.
11. Nillson, G. E., Tenland, T., Oberg, P. A. (1980) Evaluation of a Laser Doppler Flowmeter for Measurement of Tissue Blood Flow. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 27, 597–604.
12. Obeid, A. N. (1993) *In Vitro* Comparison of Different Signal Processing Algorithms in Laser Doppler Flowmetry. *Med. Biol. Eng. Comp.*, 31, 43–52.
13. Bollinger, A., Yanar, A., Hoffmann, U., Franzek, U. K. (1993) Evaluation of flux Motion in Man by the Laser Doppler Technique. *Blood Vessels*, 28, 21–26.
14. Aso, Y., Inukai, T., Takemura, Y. (1997) Evaluation of Skin Vasomotor Reflexes in Response to Deep Inspiration in Diabetic Patients by Laser Doppler Flowmetry. *Diabetes Care*, 20 (8), 1324–1328.
15. Vassalle, C., Lubrano, V., Domenici, C., L'Abbate, A. (2003) Influence of Chronic Aerobic Exercise on Microcirculatory Flow and Nitric Oxide in Humans. *Int. J. Sports Med.*, 24, 30–35.
16. Claeys, M. J., Cosyns, B., Hoffer, E., Carlier, M., Missault, L., Cools, F., De Meester, A., Vermeersch, P., Gobin, E., Dewit, B. (2004) Short-Term Effect of Atorvastatin on Ischaemic Threshold in Hypercholesterolaemic Patients with Stable Ischaemic Heart Disease. *Acta Cardiol.*, 59 (3), 269–74.
17. Sakabe, K., Fukuda, N., Wakayama, K., Nada, T., Shinohara, H., Tamura, Y. (2004) Lipid-altering Changes and Pleiotropic Effects of Atorvastatin in Patients with Hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol.*, 94 (4), 497–500.
18. Nawawi, H., Osman, N. S., Annuar, R., Khalid, B. A., Yusoff, K. (2003) Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 and Interleukin-6 Levels Reflect Endothelial Dysfunction in Patients with Primary Hypercholesterolaemia Treated with Atorvastatin. *Atherosclerosis*, 169 (2), 283–291.
19. Tan, K. C., Chow, W. S., Tam, S. C., Ai, V. H., Lam, C. H., Lam, K. S. (2002) Atorvastatin Lowers C-Reactive Protein and Improves Endothelium-Dependent Vasodilation in Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87 (2), 563–568.
20. van Venrooij, F. V., van de Ree, M. A., Bots, M. L., Stolk, R. P., Huisman, M. V., Banga, J. D.; DALI Study Group. (2002) Aggressive Lipid Lowering does not Improve Endothelial Function in Type 2 Diabetes: The Diabetes Atorvastatin Lipid Intervention (DALI) Study: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Diabetes Care*, 25 (7), 1211–1216.
21. Brown, S. L., Raal, F. J., Panz, V. R., Stevens, B. A., Veller, M. G. (2004) High-Dose Atorvastatin Therapy is Required for Significant Improvement of Endothelial Function in Heterozygous Familial Hypercholesterolaemic Patients. *Cardiovasc. J. S. Afr.*, 15 (2), 70–75.
22. Beckman, J. A., Liao, J. K., Hurley, S., Garrett, L. A., Chui, D., Mitra, D., Creager, M. A. (2004) Atorvastatin Restores Endothelial Function in Normcholesterolemic Smokers Independent of Changes in Low-Density Lipoprotein. *Circ. Res.*, 95 (2), 217–223.

23. Lorkowska, B., Chlopicki, S., Marcinkiewicz, E., Gryglewski, R. J. (2004) Statins Rise Cytoplasmic Calcium Level $[Ca^{2+}]_i$ in Cultured Endothelial Cells. *Pol. J. Pharmacol.*, 56 (3), 313–318.
24. Lorkowska, B., Chlopicki, S. (2005) Statins as Coronary Vasodilators in Isolated Bovine Coronary Arteries – Involvement of PGI₂ and NO. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 72 (2), 133–138.
25. Economides, P. A., Caselli, A., Tiani, E., Khaodhiar, L., Horton, E. S., Veves, A. (2004) The Effects of Atorvastatin on Endothelial Function in Diabetic Patients and Subjects at Risk for Type 2 Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 89 (2), 740–747.
26. Pizzi, C., Manfrini, O., Fontana, F., Bugiardini, R. (2004) Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A Reductase in Cardiac Syndrome X: Role of Superoxide Dismutase Activity. *Circulation*, 109 (1), 53–58.
27. Wassmann, S., Ribaldo, N., Faul, A., Laufs, U., Bohm, M., Nickenig, G. (2004) Effect of Atorvastatin 80 mg on Endothelial Cell Function (Forearm Blood Flow) in Patients with Pretreatment Serum Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels <130 mg/dl. *Am. J. Cardiol.*, 93 (1), 84–88.
28. Tomas, J. P., Moya, J. L., Campuzano, R., Barrios, V., Megias, A., Ruiz, S., Catalan, P., Recarte, M. A., Muriel, A. (2004) Noninvasive Assessment of the Effect of Atorvastatin on Coronary Microvasculature and Endothelial Function in Patients with Dyslipidemia. *Rev. Esp. Cardiol.*, 57 (10), 909–915.
29. Kishi, T., Hirooka, Y., Mukai, Y., Shimokawa, H., Takeshita, A. (2003) Atorvastatin Causes Depressor and Sympatho-Inhibitory Effects with Upregulation of Nitric Oxide Synthases in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats. *J. Hypertens.*, 21 (2), 79–86.
30. Schuller, T. B., Hermann, K., Baron, R. (2000) Quantitative Assessment and Correlation of Sympathetic, Parasympathetic, and Afferent Small Fiber Function in Peripheral Neuropathy. *J. Neurol.*, 247 (4), 267–272.
31. Bornmyr, S., Castenfors, J., Svensson, H., Wroblewski, M., Sundkvist, G., Wollmer, P. (1999) Detection of Autonomic Sympathetic Dysfunction in Diabetic Patients. A Study Using Laser Doppler Imaging. *Diabetes Care*, 22 (4), 593–597.

Summary

The purpose of our study was to evaluate the effect of HMG-CoA reductase inhibitor (atorvastatin) on cutaneous vasomotor responses in type-2 diabetes (NIDDM) patients with LDL-hypercholesterolemia (LDL-H). 32 NIDDM patients with LDL-H were randomly included into two groups according to the dosage of atorvastatin: 16 patients received 10 mg (D10) and 16 patients received 40 mg (D40) orally for 8 weeks. 16 healthy subjects were selected as controls (C). The study groups were matched for age, sex, and body mass index. We recorded changes in laser Doppler flux (LDF) (PeriFlux 4001, Perimed AB) induced by 3 min arterial occlusion on the pulp of the big toe, and estimated: basal LDF (b-LDF), the percent increase of b-LDF (d-LDF) and time to peak LDF (t-LDF) using a PeriSoft program (Perimed AB). The vasoconstrictor response to deep inspiration was measured, and the percent decrease of b-LDF (v-LDF) was calculated. Results: before therapy, the b-LDF and the t-LDF in both diabetic groups did not differ from the control group, and there were no significant differences after therapy. The d-LDF was decreased in both patient

groups ($p < 0.001$), and improved as a result of therapy (D10: 167 ± 54 vs $248 \pm 70\%$, $p < 0.05$ and D40: 147 ± 52 vs $320 \pm 136\%$, $p < 0.001$). The v-LDF before therapy was decreased in both patient groups ($p < 0.01$), but the increase of v-LDF after therapy was higher in D40 group (D10: 7 ± 5 vs D40: $11 \pm 6\%$, $p < 0.05$). In conclusion, our results suggest that 8 weeks of atorvastatin therapy improves the cutaneous vasomotor response in NIDDM patients with LDL-H.

Legends to Figures:

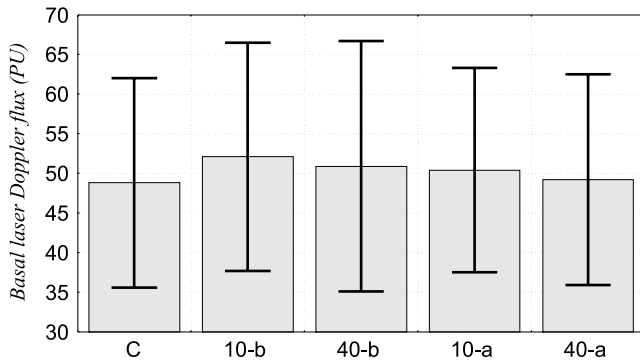


Fig. 1. Basal laser Doppler flux (b-LDF) on the pulp of the toe in healthy subjects (C) and diabetics before (10-b; 40-b) and after (10-a; 40-a) 8-week *Sortis* therapy with a daily dose of 10 and 40 mg

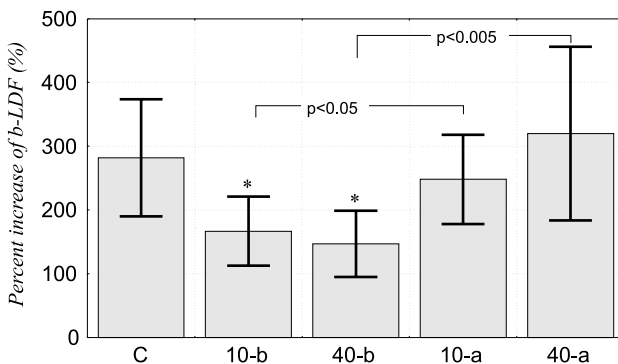


Fig. 2. Percent increase of basal laser Doppler flux (b-LDF) on the pulp of the toe in healthy subjects (C) and diabetics before (10-b; 40-b) and after (10-a; 40-a) 8-week *Sortis* therapy with a daily dose of 10 and 40 mg

* $p < 0.001$ compared to the controls

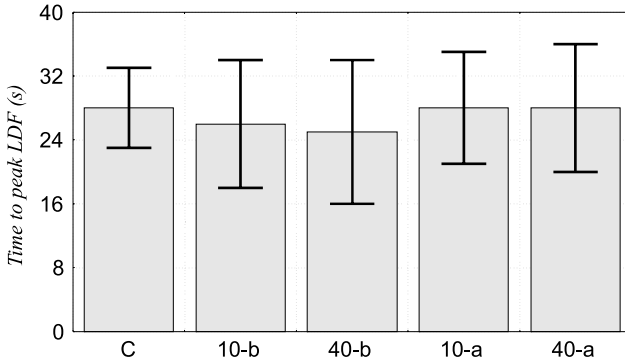


Fig. 3. Time to peak laser Doppler flux (LDF) on the pulp of the toe in healthy subjects (C) and diabetics before (10-b; 40-b) and after (10-a; 40-a) 8-week *Sortis* therapy with a daily dose of 10 and 40 mg

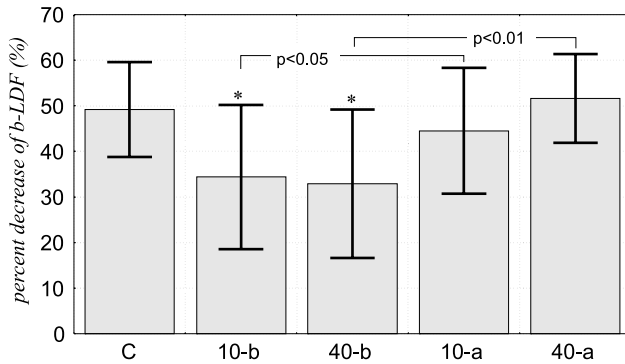


Fig. 4. Vasoconstrictor response to deep inspiration (percent decrease of b-LDF) on the pulp of the toe in healthy subjects (C) and diabetics before (10-b; 40-b) and after (10-a; 40-a) 8-week *Sortis* therapy with a daily dose of 10 and 40 mg

*p<0.05 compared to the controls

Cilvēka parvovīrusa B19 saistība ar reimatoīdo artrītu Human Parvovirus B19 Association with Rheumatoid Arthritis

**Jekaterina Žestkova, Irēna Danilāne³, Helēna Mikažāne^{1,2},
Aivars Lejnīeks^{1,2}, Svetlana Kozireva, Modra Murovska**
LU Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts
Rātsupītes iela 1a, Rīga, LV-1067
E-pasts: vaira@latnet.lv

¹ Rīgas Stradiņa universitātes Iekšējā slimību katedra
Dzirciema iela 16, Rīga, LV-1007
E-pasts: lejnieks@latnet.lv

² Slimnīca „Linezers”
Linezera iela 6, LV-1006
E-pasts: info@linezers.riga.lv

³ Valsts asinsdonoru centrs
Sēlpils iela 6, LV-1007
E-pasts: vadc@vadc.lv

Reimatoīdais artrīts (RA) ir hroniska autoimūna saistaudu sistēmas slimība. Uzskata, ka šīs slimības inducējošie aģenti var būt ģenētiskie un ārējās vides faktori, kā arī dažādu vīrusu infekcijas. Domā, ka pastāv saistība starp B19 un RA etiopatoģenēzi.

Šī darba mērķis ir pētīt parvovīrusa B19 un RA etiopatoģenēzes un prognozes iespējamo saistību.

Metodes. B19 genoma sekvenci RA pacientu un asins donoru perifēro asiņu limfocītu (PBL) un plazmas DNS paraugos noteica ar polimerāzes ķēdes reakciju ar iekšējo praimēšanu (nPCR), anti-B19 IgG un IgM antivielas noteica, lietojot imūnenzīmātisko testu (ELISA). B19 genoma secības klātbūtni meklēja arī RA pacientu sinoviālo šūnu paraugos.

B19 genoma secības klātbūtni konstatēja 18/122 (15%) PBL DNS un 4/122 (3%) plazmas DNS RA pacientu paraugos. 5/37 (13%) RA pacientu sinoviālo šūnu paraugos atrada latentu B19 infekciju.

Neviēnā no izmeklētajiem asins donoru PBL un plazmas DNS paraugiem neatrada B19 genoma secības klātbūtni.

56/63 (89%) RA pacientiem un 45/57 (79%) praktiski veselīem asins donoriem konstatēja anti-B19 IgG antivielu klātbūtni asins plazmā.

8/63 (13%) RA pacientiem un 8/57 (12%) praktiski veselīem asins donoriem atrada anti-B19 IgM antivielas. Visām IgM pozitīvām personām atrada arī IgG antivielas.

Darba rezultāti rāda, ka atšķirība B19 infekcijas sastopamības biežuma ziņā starp praktiski veselīem asins donoriem un RA pacientiem nav statistiski ticama. Bet B19 genoma secības

klātbūtnes atrade 5/37 (13%) RA pacientu sinoviālo šūnu paraugos norāda uz B19 iespējamo ietekmi reimatoīda procesa attīstībā. Mūsu darbā 7/14 (50%) RA pacientiem, kuriem atrada latentu persistentu B19 infekciju, bija konstatēta HHV-6 infekcijas aktivācija [7]. Kā zināms, HHV-6 bieži ir iesaistīts hronisku iekaisīgu un autoimūnu slimību etiopatogēnēzē. Lai novērtētu B19 nozīmi RA etiopatogēnēzē, ir nepieciešams turpināt pētījumu dinamikā.

Atslēgvārdi: reimatoīdais artrīts, parvovīruss B19, latentu persistenta infekcija, aktīva infekcija.

Key Words: rheumatoid arthritis, parvovirus B19, latent/persistent infection, active infection.

Ievads

Cilvēka imūnsistēmas galvenā funkcija ir spēja atšķirt savu ģenētisko materiālu no sveša (piemēram, no vīrusiem, baktērijām, toksīniem, ļaundabīgo audzēju šūnām un transplantātiem) un iznīcināt to. Tolerance ir imūnsistēmas īpaša spēja izvairīties no autoreaktivitātes. Tādā veidā autoimunitāti identificē kā tolerancei pretējo procesu, kad sākas "sava" iznīcināšana, imūnsistēmai izstrādājot autoantiviēlas (auto-Av). Uzskata, ka pie autoimūnu slimību inducējošiem aģentiem var pieskaitīt dažādas vīrusu grupas, antibiotikas, ģenētisko iedzimtību [2]. Vīrusu grupas, kuras asociē ar autoimūnām slimībām, ir: parvovīrusi, herpesvīrusi (EBV, CMV, HHV-6, HHV-7) [3]. Autoimūnās slimības raksturo paaugstināts auto-Av līmenis [2].

Reimatoīdais artrīts ir hroniska autoimūna saistaudu sistēmas slimība. Saskaņā ar *Annual European Congress of Rheumatology* (EULAR 2003) materiāliem, izšķir ļoti agrīno RA (mazāk nekā 12 nedēļas no saslimšanas sākuma) un agrīno RA (vairāk nekā 12 nedēļas, bet mazāk nekā 2 gadi no saslimšanas sākuma). Pakāpenisku slimības sākumu novēro 55–65% slimnieku. Tas ilgst no dažām nedēļām līdz dažiem mēnešiem. Sākuma simptomi var būt kā locītavās, tā arī vispārēji:

- nespecifiskas sūdzības: nogurums, roku pietūkums, difūzas kaulu un muskuļu sāpes. Locītavas iekļaujas procesā vēlāk;
- bieži pacients var konkrēti pateikt par pirmo saslimušo locītavu, pēc tam procesā ātri iekļaujas pārējās locītavas. Bojājuma simetrija var būt saistīta ar neiropeptīdu izdalīšanos locītavas nervu galos;
- rīta stīvums var rasties agrāk nekā sāpes un būt saistīts ar iekaisušo audu tūska miega laikā. Iekaisuma radītais rīta stīvums ilgst ne mazāk kā 45 minūtes;
- ļoti reti sāpes pilnīgi izzūd vienā locītavu grupā. Tas palīdz diferencēt RA sākumu no reimatiskā drudža, kam raksturīgs migrējošais artrīts;
- raksturīga agrīnā muskuļu atrofijas attīstība apkārt bojātai locītavai. Rezultātā parādās vājums, kas nav proporcionāls sāpēm;
- var būt paaugstināta temperatūra bez drudža;
- depresija;
- svara zudums anoreksijas un citokīnu kataboliskas darbības dēļ;

Akūts slimības sākums ir 8–15% slimnieku. Slimība attīstās dažu dienu laikā. Reti slimnieks var nosaukt konkrētu laiku, kad parādījās sāpes locītavās. Ātri pievienojas citas locītavas, bieži ar mazāku simetriju nekā pakāpeniskā sākuma laikā. Var būt drudzis. Diagnozes noteikšana apgrūtināta, jādiferencē ar sepsi un vaskulītu. Subakūts sākums ir 15–20% slimnieku. Simptomi attīstās dažās dienās nedēļas laikā. Daudz vispārēju sūdzību.

Locītavu bojājumus raksturo simetrisks iekaisums un reimatoīdu mezgliņu veidošanās. Šajā gadījumā imūnā sistēma zaudē spēju atpazīt “savu” un “svešu” un sāk producēt autoantivielas pret organisma antigēniem – tiek producēta anti-IgG antiiviela (reimatoīdais faktors). Pastāv hipotēze, ka parvovīruss B19 piedalās RA iniciācijā un attīstībā [4]. Parvovīrusi pieder pie mazākajiem DNS-saturošajiem vīrusiem, kuri spēj inficēt zīdītāju šūnas (eritroblastus, megakarioblastus, granulocītus, makrofāgus, folikulārās dendrītšūnas, T un B limfocītus, hepatocītus un endotēlijšūnas) [5].

Šī darba uzdevums ir pētīt parvovīrusa B19 un RA etiopatogēnēzes un prognozes iespējamo saistību.

Materiāli un metodes

Pētījumā tika iekļauti: 122 RA pacienti (82 sievietes un 40 vīrieši; vidējais vecums – 53 gadi) ar reimatoīdo artrītu, kuri no 2001. gada līdz 2004. gadam ārstējās slimnīcā „Linezers”, un 93 praktiski veseli asins donori (50 vīrieši un 43 sievietes ar vidējo vecumu 29 gadi) kā kontroles grupa.

Lai pārliecinātos par izolēto DNS kvalitāti, to analizēja ar β -globīna gēna PCR [6]. Lai noteiktu B19 genoma secības klātbūtni visos pētījumā iekļautos asins donoru un RA pacientu DNS paraugos, kas izolēti no PBL un asins plazmas, kā arī RA pacientu sinoviālo šūnu paraugiem, izmantoja nPCR un praimerus, kas ir komplementāri VP1 kodējošam gēnam [7]. DNS izolēja, izmantojot ātro minimetodi un fenola-hloroforma ekstrakcijas metodi. Iegūtos amplimērus analizēja elektroforēzē un vizualizēja *Kodak EDAS 290* sistēmā. 57 šajā pētījumā iekļauto asins donoru un 63 RA pacientu asins serumi bija pārbaudīti uz vīrusspecifisko IgG un IgM antivielu klātbūtni, lietojot ELISA. IgG vīrusspecifiskās antivielas noteica pret VP1 kapsīda proteīnu, un IgM vīrusspecifiskās antivielas noteica pret VP2 kapsīda proteīnu. *Fisher's Exact* testu lietoja statistiskās ticamības noteikšanai.

Rezultāti

Šajā pētījumā 122 RA pacientu un 93 praktiski veselu asins donoru PBL DNS, plazmas DNS un 37 RA pacientu sinoviālo šūnu DNS bija noteikta B19 genoma secības klātbūtne, bet 63 RA pacientu un 57 asins donoru plazmā bija noteikta arī IgG un IgM vīrusspecifisko B19 antivielu klātbūtne. Rezultāti atspoguļoti 1., 2. attēlā un 1. tabulā.

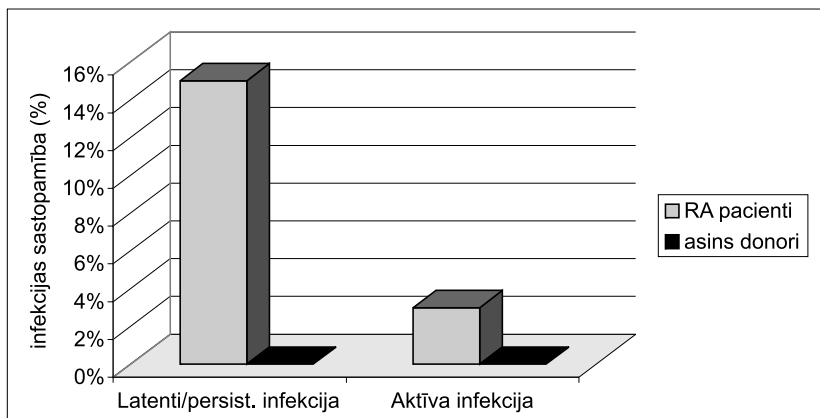
1. tabula

B19 infekcijas sastopamība RA pacientiem un asins donoriem

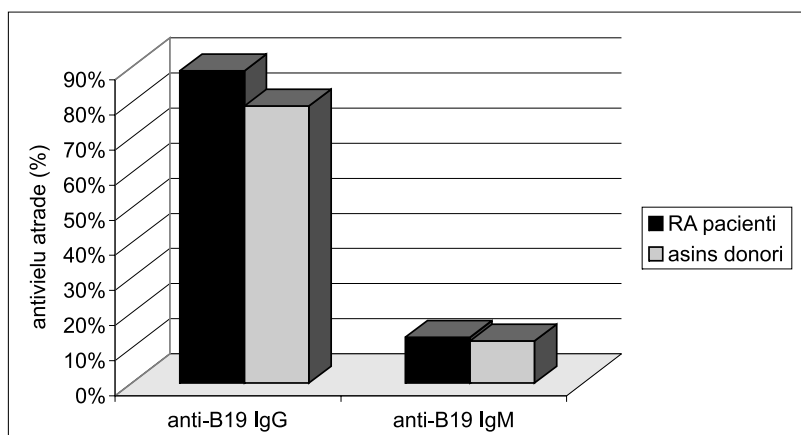
Pārbaudītās grupas	nPCR		ELISA	
	PBL	asins plazma	IgG	IgM
RA pacienti	18/122 (15%)	4/122 (3%)	56/63 (89%)	8/63 (13%)
Asins donori	0/57 (0 %)	0/57 (0%)	45/57 (79%)	8/57 (12%)

Lietojot nPCR, B19 genoma secības klātbūtni konstatēja 18/122 (15%) RA pacientu PBL DNS paraugiem, bet nevienā no 93 praktiski veselo asins donoru PBL DNS paraugiem. B19 genoma secības klātbūtni atrada arī 5/37 (13%) RA pacientu

sinoviālo šūnu paraugiem. 3 no šiem pacientiem B19 DNS atrada gan PBL, gan sinoviālo šūnu paraugos, bet 2 – tikai sinoviālo šūnu paraugos. Virēmiju jeb B19 genoma secības klātbūtni plazmā konstatēja 4/122 (3%) RA pacientiem, bet nevienam no izmeklētājiem asins donoriem.



1. att. Latenti persistējošas un aktīvas B19 infekcijas sastopamība RA pacientiem un asins donoriem



2. att. Vīrusspecifisko anti-B19 IgG un IgM antivielu atradne RA pacientu un asins donoru serumā

56/63 (89%) RA pacientiem un 45/57 (79%) praktiski veseliem asins donoriem konstatēja anti-B19 IgG antivielu klātbūtni asins plazmā. Tas liecina par pārciestu vai arī latentu persistentu infekciju. 8/63 (13%) RA pacientiem un 8/57 (12%) praktiski veseliem asins donoriem atrada anti-B19 IgM antivielas, kas liecina par aktīvu infekciju. Jāpiezīmē, ka 2 RA pacientiem, kā arī 3 asins donoriem IgM līmenis bija uz iespējamās detekcijas robežas.

3/18 RA pacientiem, kuriem konstatēja B19 DNS klātbūtni PBL DNS, atrada anti-B19 IgM. Pārējiem konstatēja tikai anti-B19 IgG antivielas.

5 RA pacientu asins paraugus izmeklēja dinamikā. 2/5 RA pacientiem konstatēja B19 infekciju.

IgM antivielu klātbūtne pirmajā un B19 DNS klātbūtne otrajā izmeklējumā pēc 7 mēnešiem – vienam; B19 DNS klātbūtne PBL DNS pirmajā izmeklējumā un B19 DNS klātbūtne plazmā un IgM^{+/−} otrajā izmeklējumā pēc 2 gadiem – otram.

Diskusija

B19 ir plaši izplatīts cilvēka patogēns. Anti-B19 IgG antivielu izplatība populācijā ir augsta, un IgG antivielas ir sastopamas 30–90% pieaugušo [5], savukārt virēmija ir reti konstatējama. Mūsu pētījumā anti-B19 IgG antivielu klātbūtni, kas liecina par pārciestu vai latentu persistentu B19 infekciju, konstatēja 79% asins donoru un 89% RA pacientu. Šie skaitļi atbilst literatūrā publicētajiem datiem [8, 4, 5]. Anti-B19 IgM antivielu klātbūtni, kas var liecināt par pirmreizēju (akūtu) B19 infekciju vai infekcijas reaktivāciju, konstatēja kā RA pacientiem, tā arī asins donoriem (attiecīgi 13% un 12%). Visiem IgM pozitīviem RA pacientiem atrada arī IgG antivielas, kas liecina, ka šīm personām ir notikusi B19 reaktivācija.

Nav novērotas atšķirības IgM sastopamības ziņā starp RA pacientiem un asins donoriem. Tas varētu būt saistīts ar asins donoru paraugu paņemšanas laiku, jo ir pierādīts, ka B19 infekcijas uzliesmojums notiek pēdējos ziemas mēnešos un agrā pavasarī [8, 4, 5, 9].

Kad pēc inficēšanās ar B19 pagājuši daži gadi, vairākos gadījumos novēro B19 genoma secības klātbūtni asins plazmā, sinoviālajās šūnās un dažādu orgānu audos (kaulu smadzenēs, miokardā, aknās) [5].

15/18 (83%) RA pacientiem konstatēja B19 genoma secības klātbūtni PBL paraugos, bet anti-B19 IgM antivielas tiem nebija sastopamas. Tas var liecināt, ka B19, iespējams, var persistēt PBL šūnās un tādā veidā tas var tikt izplatīts organismā.

Lai gan B19 DNS klātbūtne RA pacientu PBL un asins plazmas DNS bija konstatēta nelielam pacientu skaitam (attiecīgi 15% un 3%), tomēr šī vīrusa nozīmi RA attīstībā nevar izslēgt, jo B19 DNS nebija atrasta donoru paraugos. B19 genoma secību atrada arī 5/37 (13%) RA pacientu sinoviālo šūnu DNS paraugos. Tas var norādīt uz B19 iespējamo nozīmi RA attīstībā un uz B19 spēju migrēt kopā ar vienu no šūnu populācijām uz iekaisušo sinoviju.

2 RA pacientu izmeklējumi dinamikā ar intervālu no 7 mēnešiem līdz 2 gadiem parāda, ka slimības paasinājums sakrīt vai nu ar vīrusa genoma secības klātbūtni asins plazmas DNS, vai arī IgM antivielu parādīšanos. Vienam no šiem pacientiem vīrusa DNS perifērajās asinīs konstatēja abās izmeklējumā reizēs. Tas liecina, ka viņam ir persistenta B19 infekcija. Inficēšanās var notikt tāpēc, ka uz vīrusa kapsīda proteīnu iedarbību imūnā sistēma atbild neadekvāti. Iespējams, ka dažiem pacientiem imūnās sistēmas vīrusa izvadīšanas kapacitāte var būt ierobežota imūnsupresīvas ārstēšanas dēļ – ilgstoši lielās vai vidējās devās lietojot glikokortikoidus.

Analizējot iegūtos datus kopumā, var pieņemt, ka B19 infekcija var ietekmēt RA gaitu un dziļumu un pastiprināt šai slimībai raksturīgo lokālā iekaisuma procesu.

Nevar noliegt arī B19 nozīmi citu latentu persistentu vīrusu infekciju, piemēram, β-herpesvīrusu grupas vīrusu, aktivācijā. Mūsu darbā 7/14 (50%) RA pacientiem,

kuriem atrada latentu B19 infekciju, bija konstatēta HHV-6 infekcijas aktivācija [7]. Kā zināms, HHV-6 bieži ir iesaistīts hronisku iekaisīgu un autoimūnu slimību etiopatogēnēzē. Lai novērtētu B19 nozīmi RA etiopatogēnēzē, ir nepieciešams turpināt pētījumu dinamiskā.

SECINĀJUMI

1. Iespējams, ka B19 ietekmē RA slimības gaitu, klīniskās norises smagumu un prognozi.
2. B19 genoma secību klātbūtne PBL DNS RA pacientiem liecina par šī vīrusa tiešu vai netiešu ietekmi reimatiskā procesa attīstībā.
3. HHV-6 reaktivācija 7/14 (50%) RA pacientiem ar latentu B19 infekciju norāda, ka B19 var darboties kā palaidējs cita vīrusa aktivācijā, kuram savukārt var būt nozīme iekaisīgu un autoimūnu procesu attīstībā.
4. Lai pilnīgi noskaidrotu B19 nozīmi reimatoīda procesa attīstībā, ir nepieciešams RA pacientu paraugu izmeklējums dinamiskā.

LITERATŪRA

1. Kozireva S., Ņemceva G., Mikažāne H. u. c. *Cilvēka sestā herpesvīrusa saistība ar reimatoīdo artrītu*. RSU Zinātnisko rakstu krājums, 2004, 92.–96. lpp.
2. Playfair J. H. L., Chain B. M. *Immunology at a Glance*, pp. 48–49, 76–79.
3. Zadori Z., Szelei J., Lacoste M.-C., et al. *Viral Phospholipase A₂ is Required for Parvovirus Infectivity*. *Developmental Cell*, 08.2001, pp. 291–302.
4. Heegard E. D., Braun K. *Human Parvovirus B19*. *Clinical Microbiology*, 2002, pp. 485–505.
5. Kerr J. R. *Pathogenesis of Human Parvovirus B19 in Rheumatic Disease*. *Ann Rheum Dis*, 2000, pp. 672–683.
6. Vandamme A. M., Fransen K., Debaisieux M. F., et al. *Standardization of Primers and an Algorithm for HIV-1 Diagnostic PCR Evaluated in Patients Harboring Strains of Diverse Geographical Origin*. *J. Virol Methods*, 1995, 51, pp. 305–316.
7. Hokunar K., Soderlund Venermo M., Brunstein J., et al. *Integrity and Full Coding Sequence of B19 Virus DNA Persisting in Human Synovial Tissue*. *Journal of General Virology*, 2000, pp. 1017–1025.
8. Brown K. E., Young N. S. *Parvovirus B19 in Human Disease*. *Anem Rev Med*, 1997; 48, pp. 59–67.
9. Koch W. C. *Fifth (Human Parvovirus) and Sixth (Herpesvirus 6) Diseases*. *Curr opin Infect Dis*, 2001, 14, pp. 343–356.

Summary

Rheumatoid arthritis (RA) is a multifactorial autoimmune chronic disease influenced by genetic and environmental factors. Over the years a number of viruses have been studied in order to find their association with RA. The role of parvovirus B19 (B19) in development of RA was also suggested. Several studies have linked evidence of B19 infection with adult RA, whereas other studies found a weaker or no association.

The aim of this work was to study the role of human parvovirus B19 in etiopathogenesis of RA. For this purpose the presence of B19 DNA was examined in peripheral blood lymphocytes (PBL) and plasma of RA patients and blood donors by nested PCR (nPCR), anti-B19 IgG and IgM antibodies were determined by ELISA. In addition, in RA patients' presence of B19 DNA was detected in synovial cells.

B19 genomic sequence was found in 18/122 (15%) PBL DNA samples and in 4/122 (3%) plasma DNA samples of RA patients. In synovial cells of 5/37 (13%) RA patients' latent/persistent B19 infection was found.

B19 genomic sequence was not detectable in PBL and blood plasma DNA in any of the investigated blood donors.

Specific anti-B19 IgG antibodies were detected by ELISA in 56/63 (89%) examined RA patients and 45/57 (79%) blood donors. Specific anti-B19 IgM antibodies were found in 8/63 (13%) RA patients and 8/57 (12%) blood donors. All these persons also had IgG antibodies to the virus.

No statistical veracity between the groups was found. However, the following fact, that B19 DNA was found in 5/37 (13%) RA patient's synovial cells, shows, that the role of B19 in rheumatoid process development could not be excluded. In 7/14 (50%) RA patients with latent/persistent B19 infection HHV-6 (human herpes virus-6) active infection was observed [1]. It is known that HHV-6 is frequently associated with chronic inflammatory and autoimmune disease development, and, possibly, B19 could serve as an HHV-6 activating factor. Data on 5/122 RA patients' examined in dynamics give evidence on the necessity of such investigations in the group.

Etiological Agents of Nosocomial Urinary Tract Infections Nozokomiālo urīnceļu infekciju etioloģiskie aģenti

Aija Žileviča

University of Latvia, Faculty of Medicine,
1a Šarlotes Str., LV-1001, Riga, Latvia
E-mail: lumed@lanet.lv

Ruta Pabērza

Infectology Center of Latvia,
3 Linezera Str., LV-1006, Riga, Latvia
E-mail: lic@lic.gov.lv

Urīnceļu infekcijas pieder pie biežāk sastopamajām nozokomiālajām infekcijām. Tās ierosina dažādu grupu mikroorganismi, kas bieži vien ir rezistenti pret antibakteriālajiem preparātiem. Lai izvēlētos pareizu infekcijas terapiju, ir nepieciešami sistematizēti dati par slimības etioloģiskajiem aģentiem un to jutību pret preparātiem. Pētījums veikts 4 gadu laikā, izanalizējot 2758 urīna paraugus trīs Rīgas slimnīcās. Secināts, ka vadošie ir dzimtas *Enterobacteriaceae* mikroorganismi (49,4%), kam seko grampozitīvie koki (43,1%) un nefermentējošās gramnegatīvās baktērijas (7,5%). Visās grupās izskaitļotas galvenās mikroorganismu sugas, kā arī noteikta to jutība pret antibakteriālajiem preparātiem. Visaugstākā polirezistence raksturīga *Pseudomonadaceae* dzimtai (72,5%), no *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvjiem visaugstākā rezistence (53,8%) novērota KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) baktērijās.

Atslēgvārdi: nozokomiālā infekcija, urīnceļi, mikroorganismi, rezistence, antibakteriālie preparāti.

Key words: nosocomial infection, urinary tract, microorganisms, resistance, antimicrobials.

Introduction

Urinary tract infections (UTI) are among the most common bacterial infections with several million cases treated annually world wide . Nosocomially acquired UTI is an infection of the urinary tract obtained during hospitalization. It is not present on admission, and its definition requires an 48 h delay before symptoms appear. The condition belongs to the most common nosocomial infections in both acute-care (intensive-care?) hospitals and long-term-care hospitals. They account for 23–49% of all nosocomial infections [1, 2, 3]. UTI therefore have large socio-ecinimic impacts. The costs of prevention, detection and treatment of UTI's significantly affect a country's health-care budget. The consumption of antimicrobials contribute to the emergence of bacterial resistance [4, 5, 6, 7].

To optimize the use of empiric antimicrobial therapy for UTI physicians should know the etiology of UTI and the susceptibility of isolated strains to antimicrobials [8, 9, 10].

The aim of the present study was to determine the microbial etiology of nosocomial urinary tract infections and to detect the microbial susceptibility to the most commonly used antimicrobials.

Materials and methods

All microbial isolates from urine cultures were collected from inpatients. The study subjects included hospitalized patients with urinary tract infections in three hospitals of Riga – Latvian Infectology Center, Children’s Hospital and Hospital of Traumatology and Orthopedics. Between January 2000 and October 2003 2758 urine specimens were tested and 2525 bacterial strains were isolated. Cultures of urine samples were performed by conventional methods. CHROM agar Orientation (BBL) was used for rapid identification, differentiation and enumeration of the most frequent urinary tract pathogens [11, 12].

Identification of the organisms to the species level was performed by the automated Sceptor and Crystal systems.

The antimicrobial susceptibility to panel of antimicrobials was tested by standard agar disk diffusion test (BBL) according to NCCLS standards or by automated API system.

Results

Microbiology results

The total number of microbial strains isolated from significant nosocomially acquired bacteriuria was 2525. More than 30 different bacterial species were registered among them. For evaluation of the role of particular species as causative agents of UTI all uropathogens were subdivided into 3 groups. The leading pathogens were representatives of the family Enterobacteriaceae – they made up 49.4% (1247 cultures) of the total amount. They were followed by grampositive cocci – 43.1% (1088 cultures) and gramnegative nonfermenting rods – 7.5% (189 cultures). (Figure 1).

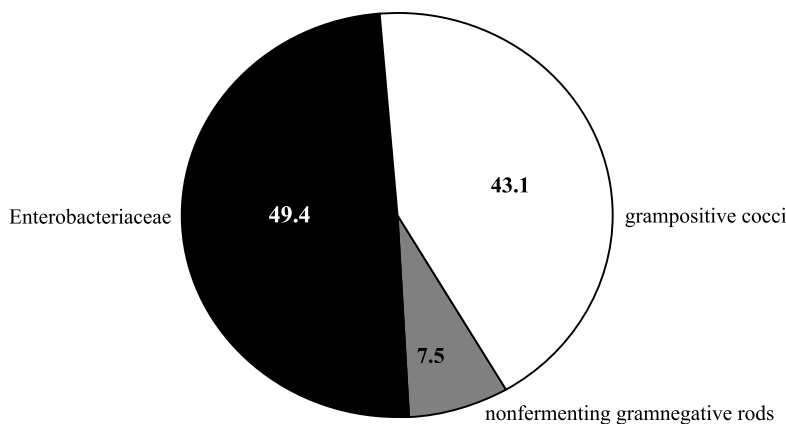


Figure 1. Etiological structure of urinary tract infections (%)

Analysis of the incidence rate of representatives of the family Enterobacteriaceae demonstrated that *Escherichia coli* was the leading pathogen – 63.7% of all. *Klebsiella pneumoniae* was isolated in 9.4% of cases, *Serratia marcescens* – in 7.3%, *Klebsiella oxytoca* – 5.5%, *Enterobacter cloacae* – 3.5%, *Proteus mirabilis* – 3.6%, *Citrobacter freundii* – 2.7%, *Proteus vulgaris* – 1.9%, *Morganella* – *Providencia* group – 1.6%,

Enterobacter aerogenes – 0.4% of cases. Others – *Hafnia*, *Ewingella* spp. etc. made up 0.4% of all the cultures (Figer 2).

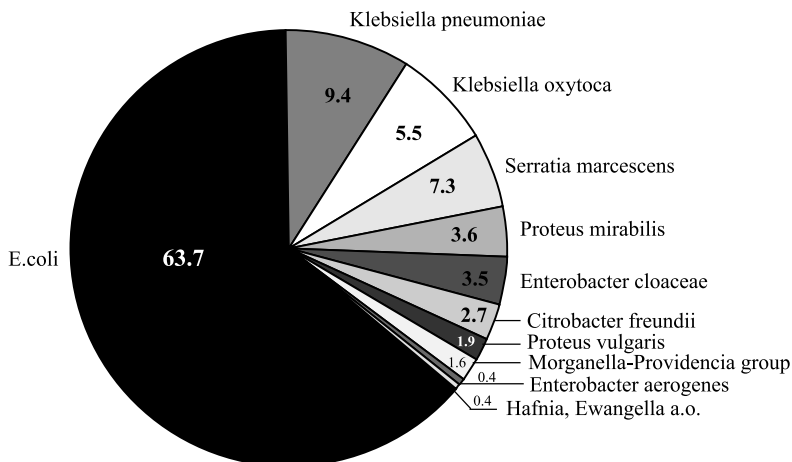


Figure 2. Gramnegative rods, representatives of family Enterobacteriaceae, isolated from urine samples (%)

From the group of grampositive cocci the leading agents were enterococci – 59.24%. From them 51.36% were *Enterococcus faecalis*, 7.86% *Enterococcus faecium* and rarely *E. durans*.

Staphylococci made up 37.96% of isolated grampositive cocci. From them 33.91% were coagulase negative staphylococci (CONS) and 4.05% coagulase positive *Staphylococcus aureus*.

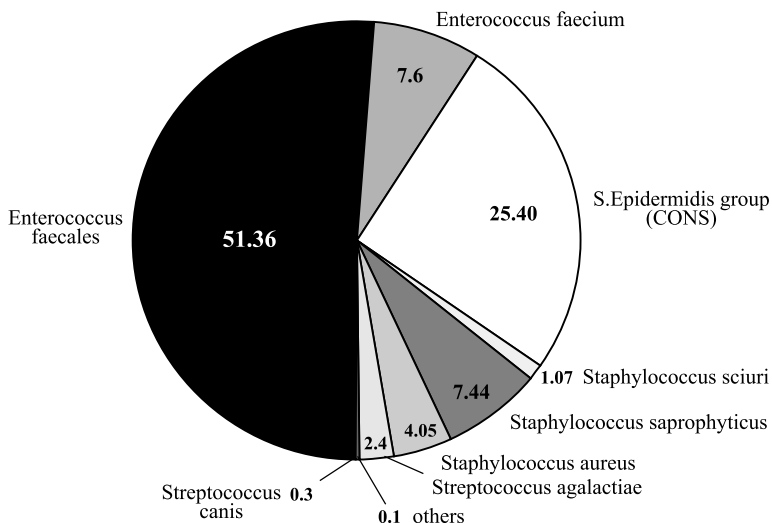


Figure 3. Grampositive cocci, isolated from urine samples (%)

Analysis of CONS revealed the main role of novobiocin sensitive *Staphylococcus epidermidis* group – 25.4%. The novobiocin resistant *Staphylococcus saprophyticus* made up 7.44% of cultures, *Staphylococcus sciuri* – 1.07%.

2.4% of cultures of grampositive cocci were identified as *Streptococcus agalactiae*, 0.3% – as *Streptococcus canis* (Figure 3).

Gramnegative nonfermenting rods made up 7.5% of all isolated uropathogens. From them 72.1% were Pseudomonads: *Pseudomonas aeruginosa* – 58.3%, *P.alcaligenes* – 6.1%, *P.putida* – 7.7%.

Acinobacter baumannii were registered in 16%, *Acinetobacter lwoffii* in 10.9% of cases. *Stenotrophomonas maltophilia* made up 0.6% of cultures. Rarely *Xanthomonas maltophilia* and *Swewanella putrificans* a.o. were isolated. (Figure 4).

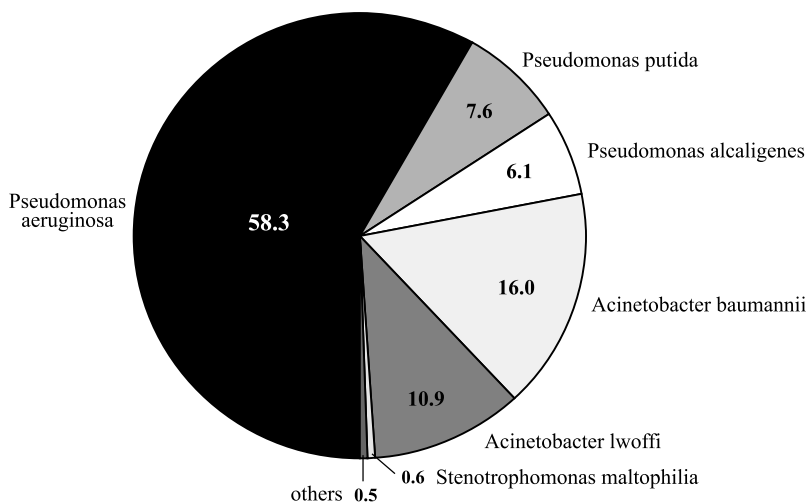


Figure 4. Gramnegative nonfermenting rods, isolated from urine samples (%)

In total most commonly isolated microorganisms were, in decreasing order: *Escherichia coli* – 31.48% (795 strains), *Enterococcus* spp. – 24.33% (612 strains), KES group (*Klebsiella*, *Enterococcus*, *Serratia* spp. – 13.43% (339 strains), *Pseudomonas* spp. – 5.38% (136 strains).

Antimicrobial susceptibility testing

The susceptibility of isolated uropathogens to the panel of antimicrobials was tested on a regular basis.

In this paper we represent the results of antimicrobial susceptibility testing only for the most significant uropathogens – *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp. and evaluation of their resistance rates to antimicrobials.

Antimicrobial resistance data are depicted in figures 5,6,7,8.

In the case of *E. coli* 45% of isolates were resistant to ampicillin, 27.7% to trimethoprim.sulfometoxazol, 14.1% to piperacillin, 12.0% to cefazolin, 4% of isolates were resistant to cefotaxime, ceftazidime, gentamicin and amikacin, 3.3% to nitrofurantoin, 2% to ciprofloxacin. No resistance was registered only to imipenem (Figure 5). Pseudomonads were highly resistant to all tested antimicrobials. The highest resistance rates were registered to ampicillin/sulbactam – 100%, trimethoprim/sulfametoxazole 82.6%, nitrofurantoin 69.6%, piperacillin 66.7%, ceftriaxone –

65.2%, cefotaxime – 60.9%, ceferazone 50%, ticarcillin – 47.6%, ciprofloxacin 43.4%, norfloxacin 42.9%, ceftazidime – 35.7%, imipenem – 25%, amikacin 13.0% (Figure 6).

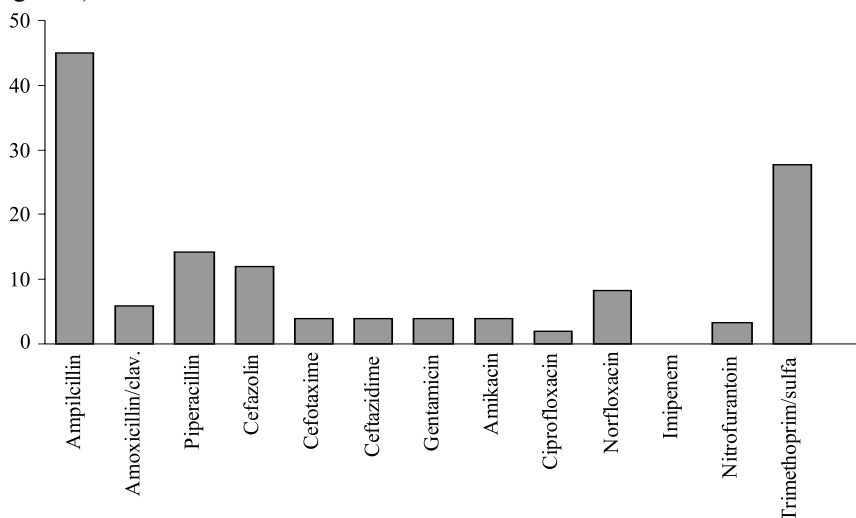


Figure 5. Antimicrobial resistance rates of E.coli

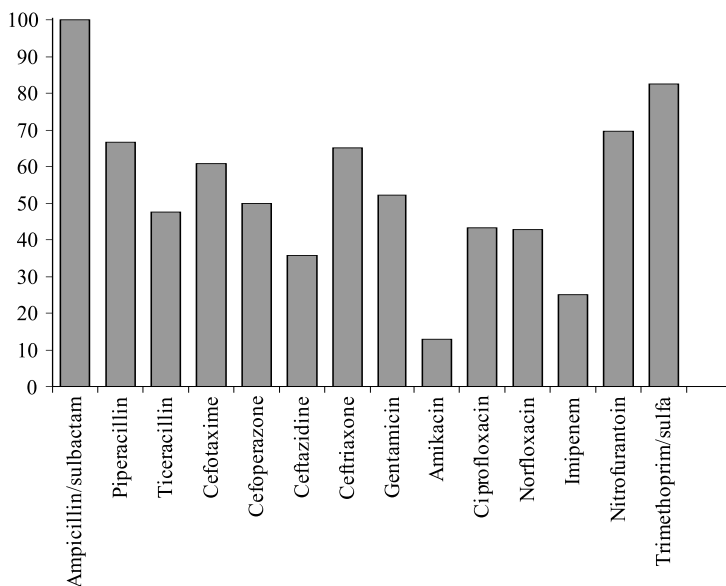


Figure 6. Antimicrobial resistance rates in Pseudomonas spp.

Klebsiella spp. were sensitive to amikacin, norfloxacin, imipenem, the highest resistance was registered to ampicillin – 90%, trimethoprim/sulfamethoxazol and cefazolin – 54.5%, amoxicillin/clavulanic acid 62.5%, nitrofurantoin – 13% (Figure 7).

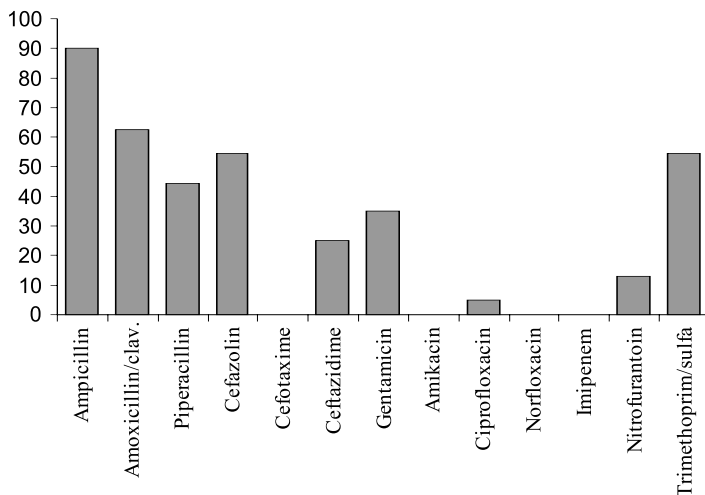


Figure 7. Antimicrobial resistance rates of *Klebsiella* spp.

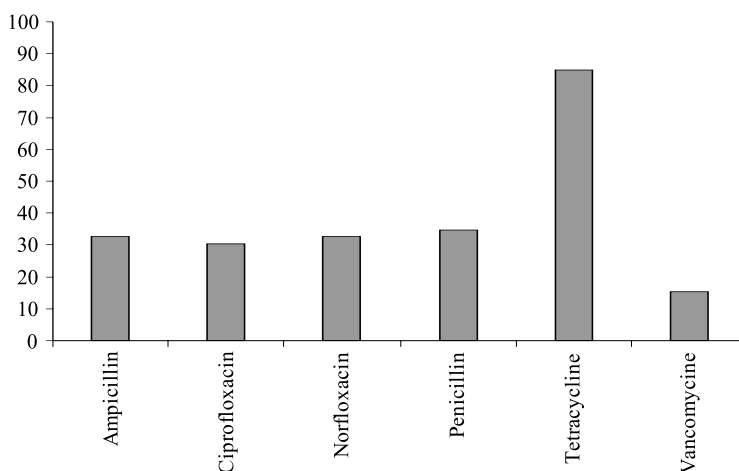


Figure 8. Antimicrobial resistance rates of *Enterococcus* spp.

As concerns Enterococci, the highest resistance rates were documented to tetracyclin – 84.9%. The vancomycin resistance was not high – 15.2%. To the other tested antimicrobials the resistance rates varied around 30%.

The analysis of polyresistance among the causative agents of UTI revealed the following. The highest rate of polyresistant isolates was registered in gramnegative nonfermenting rods. 72.5% of *Pseudomonads* and 41.9% of *Acinetobacter* spp. occurred to be polyresistant. In the family Enterobacteriaceae there were 53.8% of polyresistant strains among isolated strains of KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) group and 56% of *Citrobacter freundii*. In PMP (*Proteus*, *Morganella*, *Providencia*) group 51.0% of strains were polyresistant, but only 18.5% of *E.coli* proved to be polyresistant (Table 1).

Table 1

Polyresistant strains of gramnegative rods isolated from urine of patients with UTI

Microorganisms	Number of isolated strains	Multiple resistant strains	%
E.coli	367	68	18.5
KES Group	156	84	53.8
Citrobacter freundli	24	14	56.0
PMP group	47	24	51.0
Pseudomonas	80	58	72.5
Acinetobacter	31	13	41.9

Discussion

Although hospital acquired urinary tract infections are the most common nosocomial infections, information about the epidemiology of UTI, as well as studies investigating the best practice for prevention, detection and treatment of these infections are still quite limited.

The European Study Group on Nosocomial Infections assessed the microbiology workload, diagnostic criteria, etiology and antimicrobial susceptibility of uropathogens in 141 hospitals in 25 European countries, including 1 hospital from Latvia (13).

This study is a continuation of the work and indicates the main etiological agents of nosocomial UTI in Latvia and evaluates the incidence rate of resistant strains. The results of our study provide a view of the situation in Latvia, not different from the situation in many European countries [14, 15, 16]. Our figures will be confirmed by following studies and compared with those obtained in studies of agents of community – acquired UTI.

Conclusion

The leading agents of nosocomial UTI are representatives of the family Enterobacteriaceae (E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Serratia spp. – group KES, Proteus spp. a.o.), grampositive cocci (Enterococcus, Staphylococcus spp.) and nonfermenting gramnegative rods (Pseudomonas, Acinetobacter spp.). The highest rates of polyresistance are typical for the family Pseudomonadaceae and KES group microorganisms.

Acknowledgement

This study was supported by the Grants No 010416 and 04.1034 of the Latvian Council of Science.

REFERENCES

1. Bertran, A., Marve, C., Aisa, M. L., Revillo, M. J. (2005). *Urinary Tract Infections in Patients with Spinal Cord Injury*. J. Clinical Microbiology, Infection, 11, pp. 680–681.
2. Tambayax, P. A. (2004). *Catheter – Associated Urinary Tract Infections: Diagnosis and Prophylaxis*. Internat. J. Antimicrob. Agents, 24, pp. 541–548.
3. Johansen, T. E. B. (2004). *Nosocomially Acquired Urinary Tract Infections in Urology Departments. Why an International Prevalence Study is Needed in Urology*. Internat. J. of Antimicrob. Agents, 23, pp. 530–534.
4. Sader, H. S., Jones, R. N., Winokur, P. L., Pfaller, M. A., Doern, G. V., Barrett, T. (1999). *Antimicrobial Susceptibility of Bacteria Causing Urinary Tract Infections in Latin American Hospitals*. Clin. Microb. Infect., 5, 8, pp. 478–487.
5. Le Nicolle (1999). *Pivmecillinam for the Treatment of Acute Uncomplicated Urinary Infection*. Int. J. Clin. Pract., 53, 8, pp. 612–617.
6. Naber K. G., Morrissey, I., Ambler, J. E. (2000). *Urinary Tract Infections and Fluoroquinolones*. Science Press, pp. 1–49.
7. Manges, A. R., Johnson, J. R., Foxman, B., O'Bryan, T., Fullerton, K. E., Riley, L. W. (2001). *Widespread Distribution of Urinary Tract Infections Caused by a Multidrug – Resistant Escherichia Coli Clonal Group*. The N. Engl. J. Medic., 345, 14, pp. 1007–1013.
8. Gastmeier, P. (2001). *Nosocomial Urinary Tract Infections: Many Unresolved Questions*. Clin. Microbiol. Infect., 7, 10, pp. 521–522.
9. Bouza, E., San Juan, R., Munoz, P., Voss, A., Kluytmans, J. (2001). *A European Perspective on Nosocomial Urinary Tract Infections. II Report on Incidence, Clinical Characteristics and Outcome*. Clin. Microb. Infections, 7, 10, pp. 532–542.
10. Wagenlehner, F. M. E., Naber, K. G. (2004). *New Drugs Form Gram-positive Uropathogens*. Internat. J. Antimicrob. Agents, 24, pp. 539–543.
11. Koneman, E. W., Alle, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., Winn, W. C. (1997). *Diagnostic Microbiology*. Lippincott, pp. 136–141, pp. 785–843.
12. Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Pfaller, M. A., Tenover, R. C., Tenover, R. H. (2003). *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, pp. 185–217.
13. Bouza, E., San Juan, R., Murioz, P., Voss, A., Kluytmans, J. (2001). *A European Perspective on Nosocomial Urinary Tract Infections*. Clin. Microb. Infect., 7, 10, pp. 523–531.
14. Grude, N., Tveten, Y., Kristiansen, B. E. (2001). *Urinary Tract Infections in Norway: Bacterial Etiology and Susceptibility. A Retrospective Study of Clinical Isolates*. Clin. Microbiol. Infection, 7, 10, pp. 543–547.
15. Sinkute, G., Matulionyte, R., Laiskonis, A. (2000). *Urinary Pathogens and their Susceptibilities to Antibiotics Over 2 Years*. Clin. Microbiol. Infect., 6, suppl. 1, 110.
16. Kompoti, M., Drimis, S., Kontos, K., Georgopali, A., Zarkotou, O., Tryfinopoulou (2005). *Antimicrobial Resistance Rates in Nosocomial Catheter – Associated Urinary Tract Infections*. J. Clinical Microbiology, Infection, 11, pp. 128–129.

Summary

Nosocomially acquired urinary tract infections (UTI) are among the most common hospital infections. To optimize the use of empiric antimicrobial therapy the information of the etiology of UTI and the susceptibility of agents to antimicrobials is required. The present study was

carried out in 3 Riga hospitals during 4 years. In total 2758 urine samples were analyzed. The leading etiological agents were representatives of the family Enterobacteriaceae (49.4%), followed by grampositive cocci (43.1%), and gramnegative non-fermenting rods (7.5%). The highest rates of polyresistance were registered in the family Pseudomonadaceae (72.5%), followed by the groups KES (Klebsiella, Enterobacter, Serratia) – 53.8% from the family Enterobacteriaceae.

Staphylococcal Infections in a Surgical Hospital Stafilokoku infekcija ķirurģiskā slimnīcā

Aija Žilevica

University of Latvia, Faculty of Medicine,
1a Šarlotes Str., LV-1001 Riga, Latvia
E-mail: lumedi@lanet.lv

Tatjana Tračevska

Biomedical Research and Study Center, University of Latvia,
1 Ratsupītes Str., LV-1067 Riga, Latvia

Mikroorganismu rezistence pret antibakteriālajiem preparātiem ir kļuvusi par vienu no aktuālākajām problēmām medicīnā, tāpēc nepieciešama rezistentu mikroorganismu monitorēšana un izpēte. Grampozitīvie koki, tai skaitā meticilīnrezistentie stafilokoki, ir galvenie nozokomiālo infekciju ierosinātāji. Tā kā šiem mikroorganismiem ir raksturīga polirezistence, to precīza diagnostika klīnikā ir ļoti nozīmīga. Darbā izmantotas gan fenotipiskās, gan molekulārās diagnostikas metodes, jo precīzai meticilīnrezistences diagnostikai nepieciešamas vismaz divas metodes. No molekulārās tipēšanas metodēm optimālākā ir PFGE metode. Veikta meticilīnrezistentu stafilokoku diagnostika ķirurģiskā klīnikā 7 gadu laikā un secināts, ka to prevalence ir salīdzinoši zema. Visi izolētie meticilīnrezistentu stafilokoku celmi bija polirezistenti. Rezistence pret vankomicīnu nav reģistrēta.

Atslēgvārdi: mikroorganismi, rezistence, meticilīnrezistence, antibakteriālie preparāti, stafilokoki.

Key words: microorganisms, resistance, methicillin resistance, antimicrobial agents, *Staphylococci*.

Introduction

Antimicrobials – antibiotics and chemical drugs have revolutionised medicine, allowing treatment of diseases that were once fatal, and greatly reduced morbidity and mortality of infectious diseases.

The current era of antimicrobial therapy began more than 60 years ago. However, the use of antimicrobial agents has posed a serious problem – the increasing prevalence of microorganisms that have acquired antimicrobial resistance. The emergence and spread of antimicrobial resistance constitutes a major risk for human health.

The clinical consequences of such resistance is the impairment of the quality of life of patients i.e. increase in morbidity, therapeutic failure or relapse and mortality.

Antimicrobial resistance not only affects patients, but also increases the burden on health care services as it has certain economical consequences and causes additional health and medical care costs because of a prolonged hospital stay, the use of alternative drugs, which may be more expensive and/or even potentially more toxic, additional diagnostic testing, etc.

The strategies for prevention and control of antimicrobial resistance are complex and include the establishment of accurate surveillance systems based on precise diagnostics, generating valid, reliable and comparable data on the incidence, prevalence and modes of spread of resistant microorganisms, prudent use of antimicrobials, implementing of hygiene and infection control standards in health care facilities, coordination among the human, veterinary and environmental sectors, etc. [1–5].

Antimicrobial resistance spreads mainly among hospital microbial flora, so infection control and surveillance systems of nosocomial infections should be established first of all.

Among the pathogens causing hospital infections, gram-positive agents, particularly *cocci*, have become predominant over the past two decades. From the numerous genera of gram-positive bacteria, three of them, i.e. *Staphylococci*, *Streptococci* and *Enterococci*, have become increasingly important causes of nosocomial infections in patients [6–8].

Over the past few years, *Staphylococci* have emerged as the most prevalent cause of hospital-acquired infections both in immunologically healthy and immunosuppressed patients. This is due to the increased incidence of serious *S. aureus* infections with high mortality and complication rates associated with these infections as well as the increased incidence of infections caused by the coagulase-negative *S. epidermidis* group *Staphylococci* (CoNS), particularly catheter-related infections. They have become widespread since the 1980s. [9–12]. Nowadays CoNS are the microorganisms isolated most frequently from clinical sources and the most common cause of nosocomial bloodstream infections [13].

The selection of resistant microorganisms poses the major problem for the chemotherapy of staphylococcal infections. Penicillin resistance became widespread shortly after penicillin, the first antibiotic, was introduced into clinical use in the early 1940 s. As early as in 1944, reports described isolated strains of *S. aureus* that were resistant to penicillin by virtue of the production of the enzyme penicillinase (in the 1960 s, it was renamed β -lactamase). The incidence of resistance was initially low, but increased over the years, until, by 1960, penicillin-resistant *Staphylococci* represented the vast majority of strains in many hospitals. Nowadays, this form of resistance is commonplace. There are reports that as many as 90% of the isolates of *S. aureus* are resistant to β -lactamase labile penicillins. The same situation has been observed in CoNS.

To overcome the failure of β -lactam therapy, semisynthetic penicillinase-stable penicillins such as oxacillin, methicillin and nafcillin were synthesized. Methicillin (oxacillin), introduced in 1961, proved effective against nearly all penicillin-resistant strains. Once again, shortly after the introduction of methicillin into clinical use, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) was isolated. On this occasion, the resistance was not due to the production of an enzyme that modifies the drug, but because of the presence of an altered penicillin-binding protein PBP2a. The gene responsible for this property has been designated *mecA* which is carried on the mobile genetic element, the chromosomal cassette *mec* (SCC*mec*) [12, 14, 15].

During the last decades methicillin resistance has spread also to the coagulase-negative *Staphylococci*. Methicillin-resistant *S. epidermidis* (MRSE) and other representatives of the CoNS group such as *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. hominis*, as well as *S. saprophyticus* a.o. are often clinical isolates [16].

The most typical feature of methicillin-resistant *Staphylococci* (MRS) is their multiresistance. Most strains of MRS are resistant to erythromycin, gentamicin, tetracyclin and other antimicrobial agents [14, 17].

This study was undertaken to present data on the prevalence of MRS in a surgical hospital in Riga, to make more precise the protocol for methicillin susceptibility testing and analysis of the antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *S. aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* to the panel of antimicrobials.

Materials and methods

The study was carried out in a surgical 250-bed hospital with an intensive care unit during 1998–2004.

Bacterial strains

About 3900 clinical isolates of *Staphylococcus* spp. were studied.

Most of these isolates were from wounds, skin, abscesses, followed by blood, indwelling artificial devices, throat, etc. All isolates were gram-positive catalase-positive clustering cocci.

Included were 2006 coagulase-positive isolates identified as *S. aureus*, 65 of them methicillin-resistant and 1871 coagulase-negative *Staphylococci*, identified as representatives of *S. epidermidis* or *S. saprophyticus* groups, 169 of them methicillin-resistant. Most often *S. epidermidis sensu stricto* was isolated, followed by *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. saprophyticus* etc.

Staphylococci were identified by conventional tests such as coagulase, phosphatase activity, hemolysis, susceptibility to novobiocin, acid production from maltose, mannitol, etc. and the automated BBL Crystal system [11].

Antimicrobial susceptibility testing

Antimicrobial susceptibilities for all isolates were tested by the disk diffusion method according to the guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) using Mueller-Hinton agar (MHA, Oxoid, UK) against the following panel of antibiotics: penicillin, gentamicin, cefazolin, erythromycin, clindamycin, vancomycin, ciprofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole.

Methicillin (oxacillin) susceptibility testing

- **The standard agar diffusion technique** with commercial disks (BBL Microbiology Systems) was used. An oxacillin disk with a potency of 1 µg of oxacillin was used for detection of methicillin resistance. Because of the difficulties in detecting cross-resistance among the penicillinase-resistant penicillins (methicillin, oxacillin), the oxacillin disk is now the recommended choice for detecting methicillin-resistant *Staphylococci*. Plates were incubated at 35°C for 24 h, when zones of incubation were measured. Plates with *S. epidermidis* cultures were incubated for 48 h.

S. aureus ATCC 29213 was used as a methicillin-susceptible control strain, NCTC 8325 as a methicillin-resistant control strain.

- **E-test** [19, 22].

- **Detection of the methicillin resistance gene *mecA* by PCR (polymerase chain reaction) (22)**
- **“Slidex MRSA” detection**

The commercial Slidex MRSA detection kit (BioMerieux, Lyon, France), a latex agglutination test detecting the production of PBP2a, encoded by the *mecA* gene, thus allowing a rapid detection of methicillin resistance in *S. aureus*. It is regarded as a simple, rapid (20 min) and accurate method, which can be used for diagnostic, surveillance, epidemiological and research purposes. The kit is not validated for coagulase-negative *Staphylococci*, although the mechanism of methicillin resistance in CoNS is similar to that in coagulase-positive *S. aureus*.

Colonies identified as *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. hominis* and *S. capitis* were taken from blood agar plates after growth for 18–24 h at 35°C. Further PBP2a extraction and latex agglutination procedures were performed in accordance with the kit instructions. If PBP2a is present in the cell, a specific agglutination reaction with monoclonal antibody-sensitized latex can be observed.

Molecular typing methods

Three methods were used for molecular typing of isolated *Staphylococci* strains.

- **Macrorestriction analysis by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)**

Restriction fragment length polymorphism typing is based on the randomness of the distribution of restriction endonuclease cleavage sites on the bacterial genome. Genome restriction, followed by PFGE, is currently the typing method of choice for MRSA and for most other bacterial pathogens. It has been agreed to be a “golden standard” method owing to its high discriminatory power and reproducibility. However, the method is cumbersome and requires a high practical experience in DNA sample preparation.

In this study, strains of *S. haemolyticus* were analysed using *SmaI* macrorestriction and PFGE. The analysis was performed at the Robert Koch Institute (RKI), Wernigerode, Germany by the research group of W. Witte. In short, bacterial cells were inoculated and lysed in agarose blocks according to a standardized protocol. After incubation with endonuclease *SmaI*, the blocks were loaded in 1% agarose gel. PFGE was run on a BioRad CHEF II apparatus for 26 h.

- **Randomly Amplified DNA Polymorphism Analysis (RAPD)**

Genomic DNA was isolated from *Staphylococci* colonies by using a DNA extraction kit (MBI “Fermentas”, Lithuania). After dilution to the concentration 5 ng/μl, bacterial DNA was added to the PCR mix, containing one of four primers. The target sequences were amplified in a “MJ research” thermal cylinder in 25-μl reaction volumes (after initial denaturation at 94°C for 2 min) for 45 cycles (94°C, 30 s, 32°C, 30 s, 72°C, 1 min 30 s), followed by the final extension step at 72°C for 5 min. amplified fragments were resolved in 1.5% agarose gels and analysed using the “GelCompar4.2” software.

We used RAPD for analysis of *S. aureus* and CoNS.

• **Typing of coagulase-positive *Staphylococci* (*S. aureus*) by the PCR-RFLP method**

Coagulase encoded by the *coa* gene is produced by all strains of *S. aureus*. *Coa* gene polymorphism was used for the investigation of a PCR-based method for differentiation of *S. aureus* at the genetic level. 21 DNA isolates of *S. aureus* were typed by the PCR-RFLP method involving the amplification of the *coa* gene variable fragments (547-603-660-875bp) and the following digestion by the endonuclease *AluI*.

Results and discussion

Identification of methicillin resistance

The identification of methicillin resistance in *Staphylococci* and the collection of MRS strains were primarily based on the results of the standard agar disk diffusion method with oxacillin disk. To exclude the heterogeneity of resistance, all strains were additionally tested on 2% and 5% NaCl containing Mueller-Hinton agar and incubated at 32°C and 35°C. The use of the salt-supplemented medium demonstrated a remarkable increase in the detection of MRS strains – 5.6% of MRS were additionally registered (21).

The amplification of the *mecA* gene in PCR is still one of the basic methods for methicillin susceptibility testing in *S. aureus* and CoNS. In PCR-based detection, heterogeneous strains can be also revealed by the presence of the *mecA* gene.

Altogether, 147 Staphylococcal cultures isolated have been analysed for the presence of the *mecA* gene. Among them, there were 73 coagulase-positive *S. aureus* (65 MRSA and 8 MSSA) and 74 CoNS, including 49 strains of resistant *S. epidermidis sensu strictu*, 17 *S. haemolyticus*, 3 *S. hominis*, 2 *S. capitis* and 2 *S. warneri*, 1 *S. saprophyticus* and 1 methicillin-susceptible *S. epidermidis* isolate.

According to PCR results, all phenotypically methicillin-resistant *S. aureus* and CoNS strains showed the presence of the 310-bp fragment of the *mecA* gene, thereby confirming methicillin resistance (the method's sensitivity 100%). For 8 of the 9 control strains, respectively, phenotypically methicillin-susceptible 8 MSSA and 1 *S. epidermidis*, the PCR response was negative – the *mecA* gene was absent. One methicillin-susceptible *S. epidermidis* isolate, exhibiting oxacillin MIC 1 µg/ml, proved to possess the *mecA* gene and should be recognized as methicillin-resistant. The discordance of PCR and disk diffusion methods could be caused by the heteroresistant nature of *Staphylococci* or by the absence of the *mecA* gene expression on the phenotype. Our results correlated well with the previous studies, where the detection of the *mecA* gene was shown as more reliable than the disk diffusion method [22].

Additional testing of the strain using the E-test and the Mini Api system (Latvian Infectology Center, Dr. Ruta Paberza) confirmed methicillin resistance.

Concurrently, the Slidex MRSA detection test was used for the evaluation of *S. aureus* strains. For comparison purposes, we used some CoNS cultures.

Altogether, 34 strains identified as *S. aureus* (18 MRSA and 2 MSSA), *S. haemolyticus* (four), *S. epidermidis* (eight), *S. hominis* (one) and *S. capitis* (one) have been analysed by the Slidex MSRA detection kit. Despite the prescription of using that test for *S. aureus* alone, we have evaluated the potential of the Slidex test to be used for other *Staphylococci*. For each strain, a negative latex control was used.

After 2-3 min, the latex agglutination reaction was clearly observed in all MRSA and in all *S. haemolyticus* isolates. However, *S. haemolyticus* is a coagulase-negative coccus. The *S. epidermidis* and *S. hominis* strains showed a weak agglutination after 10–20 min with small particles, in contrast to *S. aureus* and *S. haemolyticus*. 1 strain of *S. capitis* showed negative results even after 20 min. Negative results were also observed in MSSA strains. All methicillin-resistant isolates were *mecA*-positive, including the *S. capitis* strain.

Thus, the sensitivity of the Slidex test for *S. aureus* was 100%. Therefore, the Slidex test is recommended as very reliable for the identification of the methicillin-resistant *S. aureus*, being easier to perform in routine laboratories than PCR. In the present study, the Slidex MRSA test was shown as very accurate for the detection of methicillin-resistant *S. haemolyticus*. Therefore, it can be suggested that the Slidex MRSA test and the related latex agglutination-based methicillin resistance detection kits may be used for CoNS. Additional testing by the agar screen plate or detection of the *mecA* gene by PCR may help in the case of intermediate latex test results.

Undoubtedly, at least two methods should be applied in parallel for detection of methicillin resistance [23]. *MecA*-PCR can be especially recommended for the detection of the presence of the *mecA* gene in cultures, which would also help in revealing hetero-resistant colonies. Besides, we recommend the Slidex MRSA test for rapid identification of methicillin resistance as a reliable method.

Prevalence studies of MRS

Studies were carried out during a 7-year period. The results are summarized in Table 1.

Table 1

Prevalence of methicillin-resistant Staphylococci in a hospital

	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
MRSA	2,62	1,20	1,21	4,64	1,64	2,18	3,73
MRCoNS	1,15	1,29	7,69	10,1	17,1	18,5	33,3

The results demonstrate that the prevalence of MRSA during a 7-year period in our hospital differed insignificantly and was comparatively low. It is known from the literature that the prevalence of MRSA varies markedly from country to country with very high levels (> 60% of *S. aureus* isolates) being reported from the Far East and around 50% in South Europe, but far lower levels from Scandinavian and other countries, i. e. < 1% [23]. Therefore, we can evaluate the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococci* in our hospital as low in comparison with other hospitals.

As concerns the MR CoNS, a tendency of methicillin-resistant strains to increase was documented. We are prone to conclude that it may be associated with the implementation of more precise diagnostic methods.

Molecular typing of MRS

As mentioned previously, three methods have been used for molecular typing of MRS.

Randomly Amplified DNA polymorphism (RAPD) analysis was applied to 24 MRSA and 10 coagulase-negative *Staphylococci*. 24 MRSA strains were grouped in 3 main groups (the largest one included 8 strains) with the pattern similarity 70-100% and were further analysed for epidemiological links. A possible transmission was confirmed for two cases. Coagulase-negative *Staphylococci* had more diverse patterns, and only one group was formed.

The discriminatory power of RAPD was compared to that of the PFGE method. It was found to be lower, however, RAPD was good for showing the similarity or, on the opposite, the diversity of strains. Therefore, it could be applied for preliminary screening of MRSA before PFGE.

The PFGE method was used for typing of *S. haemolyticus* resistant strains isolated from 10 bacteremia patients.

Restriction results were available for 9 strains. Restriction patterns were scanned and compared using the “GelCompar4.2” computer software. Two clusters of completely identical strains were found. Each cluster consisted of two strains: one cluster was formed by the strains 78/82 and 1063/1146, another – by the strains 379/445 and 91/115. The remaining strains were heterogeneous. However, no epidemiological links were identified between the patients corresponding to isolates, since they were admitted at hospital at different times and in various units.

PCR products of the *coa* gene were obtained from 21 DNA isolates of *S. aureus* and subsequently digested with *AluI* (MBI Fermentas). Digestion products were analysed in 6% PAAG. 16 (80%) of 21 isolates had similar patterns, 2 and 1 isolates were different from this pattern. Digestion had a failure for 3 isolates; it showed a complete PCR fragment. A high percent of the pattern similarity was recovered in our isolates; therefore, this method cannot be applied for *S. aureus* strain typing in Latvia. Similar results were obtained at the Robert Koch Institute (RKI), Germany (personal communication).

Molecular typing is necessary not only for epidemiological purposes. Although antimicrobial resistance is often described as a progressive process associated with the use of antimicrobials, actually, it may be a spontaneous process, which results from genetic mutations and the acquisition of an exogenous genetic material. So, the study of bacterial genotypes may help in predicting of antimicrobial resistance [25].

Antimicrobial susceptibility

The antimicrobial susceptibility of *Staphylococci* was tested on a regular basis. There was no tendency for changing susceptibility during the period under study for any of the tested agents. Except the β -lactam antibiotics, the highest resistance was registered for erythromycin, followed by ciprofloxacin, clindamycin, gentamicin. No strains were found susceptible to all 5 tested antibacterials.

All the MRS isolates were susceptible to vancomycin. Detailed results about the susceptibility to antibacterials of different species have been published [22].

Conclusion

Methicillin resistance in *Staphylococci* was detected by phenotypical tests and confirmed by the *mecA* PCR for all the strains and the Slidex MRSA test. Undoubtedly, at least 2 methods are necessary for detection of methicillin resistance. From molecular typing methods, PFGE was found to be most reliable. Over the monitored 7-year period, the prevalence of MRSA strains did not differ significantly and was comparatively low in our hospital. The MR CoNS prevalence has increased during the last years. All isolated MRS strains were multiresistant. Vancomycin resistance was not documented.

Acknowledgement

This study was supported by the Grants 01.0012.10.1 and 02.0011.07 of the Latvian Council of Science.

REFERENCES

1. Cornaglia, G., Hryniewicz, W., Jarlier, V., Kahlmeter, G., Mittermayer, H., Stratchounsky, L., Baquero, F. (2004) European Recommendations for Antimicrobial Resistance Surveillance. *Clin. Microbiol. Infect.*, 10 (4), 349–383.
2. Surveillance standards for antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.5
3. Huovinen, P. (1999). Antibiotic Usage and Incidence of Resistance. *Clin. Microbiol. Infect.*, 5, suppl. 4, 12–16.
4. Daschner, F. D., Cauda, R., Grundmann, H., Voss, A., Widmer, A. (2004) Hospital Infection Control of Present Practical and Future Goals. *Clin. Microbiol. Infect.*, 10 (3), 255–266.
5. Leclercq, R. (2000) Safeguarding Future Anti-microbial Options: Strategies to Minimize Resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 7, 18–23.
6. Fishetti, V. A., Novick, R. P., Feretti, J. J., Portnoy, D. A., Rood, J. I. (2000) *Gram-positive Pathogens*. ASM Press, Washington, 307–470.
7. Bouza, E., Finch, R. (2001) Infections Caused by Gram-positive Bacteria: Situation and Challenges of Treatment. *Clin. Microbiol. Infect.*, 7, suppl. 4, iii.
8. Cordeiro, J. C. R., Silbert, S., Reis, A. O., Sader, H. S. (2004). Inter-hospital Dissemination of Glycopeptid Resistant *Enterococcus faecalis* in Brasil. *Clin. Microbiol. Infect.*, 10 (3), 260–262.
9. Zilevica, A., Vingre, I. (2001) Update in Staphylococcal Infections. *Proc. of LU (LU Zinātniskie raksti)*, 631, *Medicine*, IV (I), 151–159.
10. Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Tenover, M. C., Tenover, R. H. (2003) *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, Washington D.C., 208–217, 384–404.
11. Vuong, C., Otto, M. (2002) Review. *Staphylococcus Epidermidis* Infections. *Microbes and Infection*, 4, 481–489.
12. Lowy, F. D. (1998) *Staphylococcus Aureus* Infections. *The New England Med. Journal*, 20, 520–530.
13. Carretto, E., Barbarini, D., Couto, I., de Vitis, D., Marone, P., Verhoef, J., de Lancastre, H., Brisse, S. (2005) Identification of Coagulase-negative Staphylococci Other than *Staphylococcus Epidermidis* by Automated Ribotyping. *J. Clin. Microbiol.*, 11, 177–184.
14. Stefani, S., Varaldo, P. E. (2003). Epidemiology of Methicillin-resistant *Staphylococci* in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.*, 9 (12), 1179–1186.

15. Finch, R. (2002) Bacterial Resistance – the Clinical Challenge. *Clin. Microbiol. Infect.* 8, suppl. 3, 21–32.
16. Finch, R. (1997) *Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Coagulase-Negative Staphylococci*. John Willey & Sons, England, 131–148.
17. Scheel, O., Lyon, D. J., Rosdahl, V. T., Adeyemi-Doro, F. A. B., Ling, T. K. W., Cheng, A. F. B. (1996) *In vitro* susceptibility of Isolates of Methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus*. *J. Antimicrobial Chemotherapy*, 37, 243–251.
18. Bolstrom, A., Arvidson, S., Ericsson, M., Karlsson, A. (1988) *A Novel Technique for Direct Quantification of Antimicrobial Susceptibility of Microorganisms*. ICAAC, Los Angeles, 81.
19. Hookey, J. V., Richardson, J. F., Cookson, B. D. (1998) Molecular Typing of *Staphylococcus Aureus* Based on PCR Restriction Length Polymorphism and DNA Sequence Analysis of the Coagulase Gene. *Clin. Microbiol. Infect.*, 36, 1083–1089.
20. Geha, D. J., Uhl, J. R., Gustaterro, C. A., Persing, D. H. (1994) Multiplex PCR for Identification of Methicillin-resistant *Staphylococci* in the Clinical Laboratory. *J. Clin. Microb.*, 32, 1768–1772.
21. Zileviča, A., Vingre, I. (2001) Methicillin Resistance in *Staphylococci*. *Proc. of LU (LU Zinātniskie raksti)*, IV, *Medicine*, II (643), 269–276.
22. Zileviča, A., Tračevska, T., Vingre, I., Paberza, R. (2004) Identification of Methicillin Resistance in *Staphylococci*. *Proc. of LU (LU Zinātniskie raksti)*, *Medicine*, 668, 183–191.
23. Goettsch, W., Bronzwaer, S., de Neeling, A. J., Walle, M. C., Aubry-Damon, H., Olsson-Liljequist, B., Sprenger, M. J. (2000) Standardization and Quality Assurance for Antimicrobial Resistance Surveillance of *Streptococcus Pneumoniae* and *Staphylococcus Aureus* within the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). *Clin. Microbiol. Infect.* 6 (2), 59–63.
24. Kockina, E., Miklasevics, E., Balode, A., Dumpis, U. (2004) Clinical and Epidemiological Characteristics of First Cases of MRSA Infection in a Latvian University Hospital. *Clin. Microbiol. Infect.*, 10, suppl. 3, 591–592.
25. Critchley, I. A., Karlowky, J. A. (2004) Optimal use of Antibiotic Resistance Surveillance Systems. *Clin. Microbiol. Infect.*, 10 (6), 502.

Summary

Antimicrobial resistance is one of the most urgent problems in medicine nowadays. Microorganisms resistant to first-line antimicrobials are of the greatest concern. Gram-positive cocci, particularly the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci*, the major agents of nosocomial infections, belong to them.

Owing to the multi-resistance of these agents, precise diagnosis of the methicillin resistance of *Staphylococci* is of greatest clinical importance. In our studies, the following methicillin resistance identification methods were used: the disk diffusion method, detection of the *mecA* gene by PCR, E-test and Slidex MRSA test.

For molecular typing, PFGL, RAPD tests and detection of the *coa* gene were used. All the MRS strains were multiresistant to antibacterials. No vancomycin resistance was registered.

LU Akadēmiskais apgāds
Baznīcas iela 5, Rīga, LV-1010
Tālrunis: 7034535

Grāmata iespiesta SIA "Latgales druka"